รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์จากแก่นสีเสียดกับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดด

โดย อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล และคณะ

เมษายน 2556

สัญญาเลขที่ MRG5380018

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์จากแก่นสีเสียดกับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดด

1. อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
2 . โอภา วัชระคุปต์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้รับการช่วยเหลือและกำลังใจจากครอบครัวและเพื่อน ๆ ตลอดจนบุคคลต่าง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลืออีกมากทั้งอาจารย์พี่เลี้ยงในงานวิจัย (ศ.ดร.โอภา วัชระคุปต์ และอาจารย์ที่ปรึกษา ศ.ดร. ลีณา สุนทรสุข) รวมทั้งที่ผู้วิจัยไม่สามารถกล่าวนามได้หมดในที่นี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณไว้ในโอกาสนี้

อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5380018

ชื่อโครงการ: การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์จากแก่นสีเสียดกับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดด

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน อรพรรณ อนุรักษ์วรกุล มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
อีเมล์: jangor2002@pnru.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

สีเสียดถูกนำมาศึกษาเป็นครั้งแรกด้านสารประกอบฟลาโวนอยด์ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดด โดยการออกแบบการทดลอง two - factorial design เพื่อให้สามารถประมาณการสภาวะการสกัดที่เหมาะสมและแสดงความสัมพันธ์ของสภาวะในการสกัด (เปอร์เซ็นต์เอทานอล อุณหภูมิ อัตราส่วนของตัวทำละลาย เวลา และจำนวนครั้งในการสกัด) จากแก่นสีเสียดให้ได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดดที่ดี

ผลการทดสอบสารสกัดที่ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสีเสียดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดดที่ดี ปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุดที่สกัดได้มีค่าเท่ากับ 26.16 มิลลิกรัมต่อกรัมรูติน ความเข้มข้นที่สามารถยังยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (effective concentration, EC_{50}) มีค่าเท่ากับ 7.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าการป้องกันแสงแดด (Sun Protection Factor, SPF) สูงสุดที่สกัดได้มีค่าเท่ากับ 14.02 ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ การต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดด คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอล และอุณหภูมิในการสกัด โดยทั้ง 2 ปัจจัยมีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอลเพิ่มขึ้นและลดอุณหภูมิลงมีผลทำให้ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดดสูงขึ้นและทำให้ EC_{50} ลดลง หรือความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลง

งานวิจัยนี้จึงได้แสดงให้เห็นแนวทางการออกแบบการสกัดสีเสียดและความเป็นไปได้ของการใช้สารสกัดสีเสียดเพื่อเป็นตัวเลือกในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดใหม่ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้อย่างชัดเจน

คำหลัก : สีเสียด, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, การป้องกันแสงแดด

Abstract

Project Code : MRG5380018

Project Title : The analysis of flavonoids of heartwood *Acacia catechu* (L.f) Wild, their antioxidant and sun protection properties

Investigator : Oraphan Anurukvorakun

E-mail Address : jangor2002@yahoo.com, jangor2002@pnru.ac.th

Project Period : 2 years

Abstract:

Acacia catechu (L.f.) Willd was firstly investigated its flavonoid compounds antioxidant and sun protection preperties. Factorial design was applied to estimate the optimal extraction conditions (percentage of ethanol, extraction temperature, material ratios, extracting time and number of the extraction) and their interaction affecting based on the flavonoid content, antioxidant and sun protection preperties. The results revealed that *A.catechu* provided good antioxidant and sun protection properties. The highest amount of total flavonoids from the extracts was 26.16 mg per gram rutin. The lowest effective concentration at 50 percent (EC_{50}) was 7.20 μg per milliliter. The highest sun protection factor (SPF) of the *A.catechu* extract gels was 14.02. In order that, the significant factor for total flavonoids content, antioxidant and sun protection properties were percentage of ethanol and extraction temperature. The significant factors provided the same trends for the responses. Total flavonoid amount and sun protection property could be improved by increasing percentage of ethanol and decreasing extraction temperature. Besides, EC_{50} could be decreased. Obviously, this work demonstrated effective models for the extraction *A.catechu* and the possibility to create a novel sun screen product with antioxidant property from *A.catechu*

Keywords : *Acacia catechu,* sun protection factor, antioxidant

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ I
บทคัดย่อ II
สารบัญเรื่อง IV
สารบัญตาราง VI
สารบัญรูปภาพ VII

บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 วิธีการดำเนินงาน 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับสีเสียด 4
2.2 เทคนิคการสกัด 6
2.3 การวิเคราะห์สารสกัด 9
2.4 เครื่อง spectrophotometer 11
2.5 สารสำคัญที่พบในพืช 13
2.6 สารประกอบฟลาโวนอยด์และการต้านอนุมูลอิสระ 19
2.7 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับรังสีอัลตราไวโอเลต 24
2.8 ผลิตภัณฑ์กันแดด 28
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 30
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 30
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย 30
3.3 วิธีการทดลอง 31
3.4 การทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ 36
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล 37
4.1 ผลการทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 37
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 39

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ผลการทดสอบค่าการป้องกันแสงแดด 41
4.4 ผลการทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ 42
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 45
5.1 การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 45
5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 45
5.3 การทดสอบค่าการป้องกันแสงแดด 45
5.4 การทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ 46
5.5 ข้อเสนอแนะ 48
ผลผลิต 48
สรุปรายงานการเงิน 49
บรรณานุกรม 51
ภาคผนวก 54

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 พลังงานรังสีดวงอาทิตย์ 24
ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงระดับและปัจจัยในการสกัดแก่นสีเสียด 31
ตารางที่ 3.2 ตารางแสดงวิธีการสกัดแก่นสีเสียดจากระดับและปัจจัยในการสกัด 32
ตารางที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร 37
ตารางที่ 4.2 แสดงค่าความเข้มข้นที่ต้านการออกซิเดชัน 50 % (EC_{50}) 39
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าการป้องกันแสงแดดเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยของการสกัด 41
ตารางที่ 5.1 แสดงความสัมพันธ์และความเกี่ยวข้องของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ค่าการต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดด 47

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 รูปลักษณะของลำต้นและส่วนประกอบของต้นสีเสียด 4
ภาพที่ 2 แสดงเครื่อง Rotary evaporator 9

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สีเสียด (catechu หรือ cutch) เป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย เป็นพืชในวงศ์เดียวกับกระถินพิมาน กระถินณรงค์ คือสกุล (Genus) *Cassia* ในวงศ์พวกไม้แดง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *(Acacia catechu* (L.f.) Willd) (วิมล ศรีศุข. 2552) วงศ์ Fabaceae ในปัจจุบันมีการนำแก่นสีเสียดมาใช้ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น นำแก่นสีเสียดไปเคี่ยวกับน้ำได้สารรสฝาดและมีสีน้ำตาล สามารถใช้ย้อมผ้า แห อวน หนัง หรือใช้ผงผสมกับปูนแดงกินกับหมากพลูป้องกันไม่ให้ปูนแดงกัดปาก สารสกัดที่ได้เมื่อเคี่ยวเป็นก้อนแล้วเป็นยาสมานอย่างแรง แก้ท้องร่วงโรคบิด แก้ไข้จับสั่น อมแก้เสียงแห้ง รักษาโรคเหงือกเพดาน ลิ้น ฟัน รักษาแผลในลำคอ ล้างแผลไฟไหม้ แผลเน่าเปื่อย เนื้อในของเมล็ด ใช้ในการรักษาโรคหิดและโรคผิวหนัง (วิมล ศรีศุข. 2552)

สารสำคัญกลุ่มหลักที่พบในสีเสียดไทย คือ สารกลุ่มแทนนิน (tannins) ที่ทำให้พืชสมุนไพรชนิดนี้มีรสฝาด ได้แก่ catechutannic acid ในปริมาณ 20-35% acacatechin, epicatechin,phlobatannin, protocatechu tannins, pyrogallic tannins, epicatechin-3-*O*-gallate, epigallocatechin-3-*O*-gallate นอกจากนี้ยังพบสาร catechu red และ caffeine รวมทั้งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavoniods) ได้แก่ quercetin, quercetagetin, fisetin, flavanol dimers, flavonolglycosides และ catechins (Anitha. 2011, Azad. 2001, Shen. 2006)

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น catechins ถือเป็นกลุ่มสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น anti-inflammatory, anti-vinyl, anti-carcinogenic และฤทธิ์ antioxidant (Miean. 2001, Adriana. 1999, Akihisa. 1987, Basile. 2000, Ewald. 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) จากแหล่งธรรมชาติบางชนิดสามารถป้องกันแสงแดดได้ (Siliva. 2005, Lee. 2008) จึงทำให้สารจากธรรมชาติมีความสำคัญและน่าสนใจในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทยซึ่งมีความหลากหลายทางชีวภาพและมีที่ตั้งอยู่บริเวณเส้นศูนย์สูตรจึงทำให้ได้รับอิทธิพลจากแสงแดดหรือรังสีอัลตราไวโอเลตเป็นอย่างมาก

รังสีอัลตราไวโอเลตเป็นรังสีที่มีความถี่สูงเกินกว่าสายตามนุษย์จะมองเห็น เมื่อมีความถี่สูงจึงมีพลังงานสูง เมื่อมีพลังงานสูงจึงมีอำนาจในการทะลุทะลวงสูง แหล่งกำเนิดของรังสีอัลตราไวโอเลตนั้น มีทั้งจากธรรมชาติและจากที่มนุษย์ประดิษฐ์ขึ้น แต่แหล่งกำเนิดรังสีอัลตราไวโอเลตที่สำคัญ คือ ดวงอาทิตย์ และคนส่วนใหญ่จะได้รับรังสีอัลตราไวโอเลตจากแสงแดด แต่เนื่องจากโอโซนในชั้นของบรรยากาศลดลง มนุษย์และสิ่งแวดล้อมจึงได้รับรังสีรังสีอัลตราไวโอเลตเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้รังสี

อัลตราไวโอเลตยังเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคผิวหนังและตาอักเสบ เช่น โรคต้อลม โรคต้อเนื้อ และโรคมะเร็งผิวหนัง (Choquenet. 2008)เป็นต้น

อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์กับการต้านอนุมูลอิสระกับความสามารถในการป้องกันแสงแดด (Sun Protection Factor, SPF) และความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดแก่นสีเสียดต่อปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์กับการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการป้องกันแสงแดด รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อความสามารถในการป้องกันแสงแดด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำเพื่อการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คุณสมบัติการเป็นสารกันแดดของสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียด รวมถึงการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์กับความสามารถในต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดด และอิทธิพลของปัจจัยในการสกัดต่าง ๆ ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เอทานอล อุณหภูมิ อัตราส่วนของตัวทำละลาย เวลา จำนวนครั้งในการสกัด ต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์และความสามารถในการป้องกันแสงแดด เพื่อให้ทราบถึงวิธีการในการสกัดแก่นสีเสียดให้มีปริมาณ ฟลาโวนอยด์สูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีคุณสมบัติการเป็นสารกันแดดที่ดีและสามารถเป็นประโยชน์ต่อการนำมาปรับปรุงผลิตภัณฑ์กันแดดต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการเป็นสารกันแดด

1.2.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการเป็นสารกันแดด

1.2.1 เพื่อศึกษากระบวนการสกัดของสารฟลาโวนอยด์จากแก่นสีเสียดที่สามารถให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดดได้ดี

1.3 วิธีการดำเนินงาน

1.3.1 ศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดแก่นสีเสียดได้แก่ เปอร์เซ็นต์เอทานอล อุณหภูมิ อัตราส่วนของตัวทำละลาย เวลา จำนวนครั้งในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันและการเป็นสารกันแดด

1.3.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากแก่นสีเสียด

1.3.3 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์กับค่าการป้องกันแสงแดด (Sun Protection Factor, SPF) ของสารสกัดจากแก่นสีเสียด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

1.4.2 ทราบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และความสามารถในการเป็นสารกันแดด

1.4.5 ทราบวิธีการสกัดแก่นสีเสียดที่สามารถให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สูง

1.4.5 ทราบวิธีการสกัดแก่นสีเสียดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี

1.4.6 ทราบวิธีการสกัดแก่นสีเสียดที่สามารถเป็นสารกันแดดได้ดี

1.4.7 เพิ่มมูลค่าและความน่าเชื่อถือในการนำแก่นสีเสียดไปใช้ประโยชน์ในทางด้านการรักษาโรค โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระ

1.4.8 สามารถเพิ่มมูลค่าและความน่าเชื่อถือในการนำแก่นสีเสียดไปใช้ประโยชน์ทางด้านเครื่องสำอางโดยเฉพาะสำหรับผลิตภัณฑ์กันแดด

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับสีเสียด

2.1.1 ประวัติความเป็นมา

ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของสีเสียด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Acacia catechu* (L.f.) willd

ชื่อวงศ์ Fabaceae

ชื่อสามัญ Catechu

ชื่อท้องถิ่น สะเจ สีเสียดเหลือง สีเสียดหลวง สีเสียดแก่น

รูปลักษณะ สีเสียด เป็นไม้ยืนต้น สูง 10-15 เมตร กิ่งมีหนามเป็นคู่ ใบประกอบแบบขนนกสองชั้น เรียงสลับ ยาว 9-17 เซนติเมตร ใบย่อยจำนวนมาก รูปขอบขนาน ขนาดเล็ก ดอกช่อออกที่ซอกใบ รูปทรงกระบอกตรง กลีบดอกสีนวล ผลเป็นฝัก แบนยาว สีน้ำตาล

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้ยืนต้น สูง 5-15 เมตร มีหนามแหลมโค้งสั้นกว่า 1 เซนติเมตร หูใบรูปลิ่มแคบ ขนาดเล็กใบประกอบแบบขนนกสองชั้น เรียงสลับช่อใบย่อย 9-30 คู่ใบย่อยรูปขอบขนานยาว 2-6 มิลลิเมตร ดอกช่อเชิงลดออกเป็นกลุ่ม 1-4 ช่อที่ซอกใบแกนกลางออกยาว 3.5 – 7.5 เซนติเมตร กลีบดอกยาว 2-3 เท่าของกลีบเลี้ยง เกสรตัวผู้สีขาวหรือขาวแกมเหลืองฝักรูปขอบขนานแบนกว้าง 1-1.5 เซนติเมตร ยาว 5-7.5 เซนติเมตร สีน้ำตาลเป็นมันมีเมล็ด 3-10 เมล็ด

ภาพที่ 1 รูปลักษณะของลำต้นและส่วนประกอบของต้นสีเสียด

[cited 2011 Oct 3]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Acacia_catechu

2.1.2 สรรพคุณ

เปลือกต้น แก้ท้องร่วง แก้ลงแดง แก้อติสาร แก้โรคผิวหนัง ล้างแผลถูกไฟไหม้ ชะล้างบาดแผล ล้างแผลหัวนมแตก สมานแผล

แก่น ฝาดสมาน

ยาง แก้ท้องร่วง แก้บิด แก้แผลในปากในคอ สมานแผล ห้ามเลือด แก้โรคผิวหนัง แก้บาดแผลถูกไฟไหม้ ชะล้างบาดแผล แก้ลงแดง แก้อติสาร บำรุงธาตุ

เปลือกลูก แก้ท้องลูก

2.1.3 การนำไปใช้ประโยชน์ (Miean. 2001, Adriana. 1999, Akihisa. 1987, Basile. 2000, Ewald. 1999)

1) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

(1) ฤทธิ์ต้านจุลชีพ

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่าสารสกัดเมทานอล และเฮกเซนจากสีเสียดไทยมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 1,13-15 *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi, Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* และ *methicillinresistant S. aureus* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเฮกเซนจากเปลือกต้นสีเสียดไทยมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* และ *Aspergillus niger* ได้

(2) ฤทธิ์ต้านอักเสบ

การทดลองนำสารสกัดผสมระหว่าง baicalin จาก *Scutellaria baicalensis* และ (+) (-) Catechin จาก *A. catechu* มาทดสอบฤทธิ์ลดการอักเสบ พบว่าสารผสมดังกล่าวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase (COX) และ 5-lipoxygenase (5-LOX) ได้ โดยมีค่า IC50 (50% inhibitory concentration) ต่อ ovine COX-1 and COX-2 peroxidase enzyme และ potato 5-LOX enzyme เท่ากับ 15 g/mL และ 25 g/mL ตามลำดับ

(3) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของส่วนสกัดเอทานอลจาก *A. catechu* (L.f.) Willd. ด้วยวิธี 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Buthylated Hydroxyl toluene (BHT) และ Quercetin ได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC50) เท่ากับ 10.45 mg/ml และ 2.73 mg/ml ตามลำดับ

(4) ฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ

นอกจากฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอักเสบ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแล้ว ยังมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ของสารสกัดจากสีเสียดไทยอีกหลายด้าน เช่น ฤทธิ์ต้านการ ก่อกลายพันธุ์ ฤทธิ์ลดความดันโลหิต ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ฤทธิ์ยับยั้งการบีบตัวของลำไส้ และ Hepatoprotective activity เป็นต้น

2.2 เทคนิคในการสกัด (ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. 2538), (อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2549)

2.2.1 การสกัดแยกสารจากพืช

Liquid - Liquid extraction เป็นการสกัดที่สารตัวอย่างถูกแยกออกจากตัวทำละลาย (Solvent) ที่ไม่รวมตัวกัน 2 ชนิด ซึ่งความสามารถในการละลายของตัวอย่างในตัวทำละลายทั้งสองนั้นไม่เท่ากัน (immiscible solvent) มีตัวแปร 2 ชนิดที่ใช้อธิบายการแยกของสารตัวอย่างในตัวทำละลายทั้งสองนี้ คือ สัมประสิทธิ์การแยกและอัตราการการแยก การสกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายเกิดขึ้นได้สองกรณี กรณีแรก คือ การสกัดเกิดขึ้นเมื่อสมดุลคงที่ระหว่างตัวทำละลาย 2 ชนิด ที่ไม่เข้ากัน และกรณีที่สอง คือ เกิดการสกัดแบบต่อเนื่องซึ่งแทบไม่สามารถหาสมดุลของปฏิกิริยานี้ได้เลย ความจำเพาะและสัมประสิทธิ์การสกัดได้มาจากการเลือกใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดที่ไม่เท่ากัน การจับคู่กันระหว่างน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อสารตัวอย่างที่ไม่ต้องการเป็นพวกไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เราจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ในขณะที่ถ้าสารที่เราต้องการเป็นพวกไม่ชอบน้ำ (hydrophilic) จะใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ทั้งนี้ขึ้นกับธรรมชาติของสารตัวอย่าง เช่น ถ้าวิธีใช้เป็นรีเวิร์สใน High Performance Liquid Chromatography (HPLC) สารตัวอย่างที่ใช้จะถูกแยกได้ดีที่สุดในน้ำ ซึ่งในกรณีนี้สารตัวอย่างจะสามารถฉีดเข้าไปใน HPLC ได้โดยตรงในทางกลับกัน ถ้านำสารตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วย GC สารตัวอย่างจะแยกได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้การแยกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อาจเกิดการระเหยของตัวทำละลายขึ้นได้ สมดุลของกระบวนการอาจถูกรบกวนได้ด้วยปัจจัยหลายๆอย่าง ซึ่งรวมไปถึงการปรับความเป็นกรด-ด่าง เพื่อป้องกันการแตกตัวเป็นไอออนของกรด-เบส การจับคู่ของกับสารตัวอย่างที่แตกตัวเป็นไอออนได้ การจับตัวระหว่างสารเชิงซ้อน ที่ไม่ชอบน้ำกับไอออนเหล็ก หรือการเติมเกลือที่เป็นกลางลงในเฟสน้ำเพื่อลดความสามารถในการละลายของสารตัวอย่าง (salting-out)

2.2.2 การสกัดแบบไม่ต่อเนื่อง

ในกรณีที่ตัวอย่างอยู่ในรูปน้ำ เมื่อนำมาใช้การสกัดแบบไม่ต่อเนื่องปรกติจะใช้กรวยแยก แล้วเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไปใน ปิดฝาแล้วเขย่าแรงๆประมาณ 1-2 นาทีเพื่อให้มีความสัมพันธ์กันระหว่างอนุภาคของสารละลายสองชนิดในกรวยแยก เกิดการถ่ายเทมวลสารและทำให้เกิดประสิทธิภาพในการแยก ในระหว่างการเขย่าแยกต้องมีการเปิดฝากรวยแยกยออกเพื่อระบายความดัน จากก๊าซที่เกิดขึ้นในระบบ จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วไขเอาสารละลายอินทรีย์ออกไปเก็บ

เติมตัวทำละลายใหม่ลงไปซ้ำ แล้วทำตามขั้นตอนที่ผ่านมาเช่นนี้อีกไม่น้อยกว่า 3 ครั้ง นำสารละลายอินทรีย์ที่ได้มารวมกัน ก่อนนำไปทำการระเหยให้เป็นสารสกัดเข้มข้น

การสกัดแบบต่อเนื่อง สำหรับกรณีที่จลศาสตร์ของการสกัดเป็นไปอย่างช้าๆ เช่น สมดุลระหว่างสารตัวอย่าง ที่เป็นพวกชอบน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ ที่มีค่าสัมประสิทธิ์การแยกน้อยๆ หรือมีปริมาณตัวอย่างมากๆต้องใช้ปราณการสกัดแบบต่อเนื่อง วิธีนี้จะให้ความร้อนแก่การสกัดตัวทำละลายอินทรีย์จนเดือดมีการควบแน่น แล้วซึมผ่านตัวอย่างที่ปนอยู่กับน้ำ การสกัดของเหลวแบบต่อเนื่องนี้ใช้กับทั้งตัวทำละลายอินทรีย์ที่เบาและหนักกว่าน้ำ วิธีการคือเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงในขวดก้นกลม เติมชิ้นส่วนกันเดือด ให้ความร้อนแก่ขวดก้นกลมโดยใช้เครื่องอังน้ำ ให้การสกัดเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องประมาณ 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำพักเครื่องให้เย็นก่อนนำสารที่สกัดได้ออกมาระเหยตัวทำละลายออก ปัญหาของการใช้ Liquid – Liquid extraction ได้แก่ การใช้สารตัวอย่างที่เป็นอิมัลชันที่ส่วนของสารลดแรงตึงผิวหรือไขมันไม่สามารถกระจายตัวได้อย่างสม่ำเสมออยู่ในตัวอย่างได้จากการหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) การกรองด้วยใยแก้ว (glass wool) การแช่เย็น การทำ salting-out หรือเติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างลงไป ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีผลให้ได้อัตราการสกัดมีอัตราส่วนที่แตกต่างกันไปแม้จะใช้ตัวอย่างชนิดเดียวกันในการวิเคราะห์ปัญหาอีกประการหนึ่งคือการปนเปื้อน จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะนำตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์สูงมาใช้ในการสกัดและทำความสะอาดเครื่องแก้วที่จะใช้ เพื่อให้ได้สารที่จะนำมาวิเคราะห์ที่มีความบริสุทธิ์สูง

การสกัดแยกสาร เป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ได้ สารสกัด (Extract) สารออกฤทธิ์ (Bioactive compound) สารสำคัญ (Active constituent) วิธีที่นิยมใช้ได้แก่ การสกัดเย็น (Maceration) และการสกัดร้อน (Soxhlet extraction)

ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic Solvents) การเรียงลำดับการมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์เรียงจากน้อยไปมากได้ ดังนี้

Cyclohexane < Carbon tetrachloride < Ethylene trichloride < Toluene < Benzene < Dichlomethane < Chloroform < Ethyl ether < Ethyl acetate < Acetone < Ethanol < Methanol < Water

การเลือกตัวทำละลาย

1) สามารถละลายสารออกฤทธิ์ที่ต้องการสกัดได้ดี ในขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด

2) ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป

3) มีความคงตัวดี หาได้ง่าย ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

2.2.3 การสกัดแยกสารออกฤทธิ์

1) สกัดแยกสารสกัดหยาบ (Crude extract) มี 2 วิธีหลักๆ คือ การสกัดเย็นและการสกัดร้อน

2) ทำให้สารสกัดหยาบเข้มข้น โดยการระเหยแห้งตัวทำละลายออก

3) ตรวจวิเคราะห์และทดสอบประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบ

4) ตรวจวิเคราะห์และทดสอบประสิทธิภาพสารออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบ (กรณีที่นำสารสกัดหยาบไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์

2.2.4 การสกัดสารที่เป็น (งามผ่อง คงคาทิพย์)

Liquid – solid extraction มีวิธีที่ใช้โดยทั่วไป คือ Soxhlet extraction วิธีนี้ถูกค้นพบโดย Baro Van Soxhlet ในกลางศตวรรษที่ 19 ปกติแล้วสิ่งสำคัญที่ใช้กับ Liquid – solid extraction คือ ความร้อนหากไม่ใช้ความร้อนก็อาจใช้วิธีอื่น เช่น การเขย่า (shaking) หรือทำให้เกิดการสั่นสะเทือน (sonication)

2.2.5 Soxhlet extraction

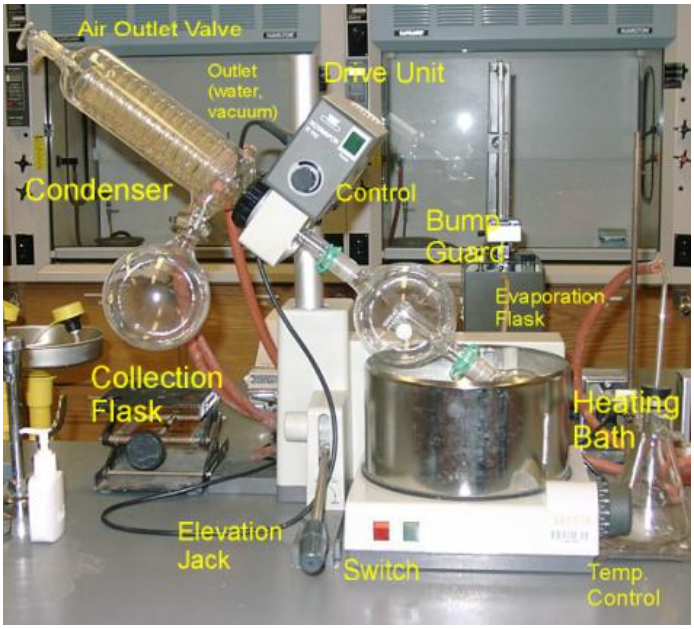
วิธีนี้สามารถใช้ได้ครั้งละ 1 ตัวอย่าง ต่อเครื่องมือ 1 ชุด เครื่องมือที่ใช้ต่อเข้าในชุด soxhlet extraction มี 2 แบบที่แตกต่างกัน คือ แบบแรก ไอของตัวทำละลายถูกควบแน่นจากท่อที่อยู่ด้านนอกของคอลัมน์บรรจุตัวอย่าง (กระบวนการสกัดที่เกิดขึ้นเป็นไปอย่างช้าๆ) อีกแบบจะเป็นการกลั่นกลับภายในคอลัมน์เอง (กระบวนการสกัดเกิดขึ้นเร็วกว่าชนิดแรก)

2.2.6 การระเหยตัวทำละลาย

เครื่องมือพื้นฐานที่ใช้ในการระเหยตัวทำละลายมากที่สุด ได้แก่ Rotary evaporator

Rotary evaporation

วิธีนี้ตัวทำละลายจะถูกดึงออกมาเมื่อลดความดันลงจากขวดบรรจุตัวอย่างซึ่งหมุนอยู่ในเครื่องอังน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ ตัวทำละลายทีออกมาจะควบแน่นลงไปในขวดรับสาร ปัญหาที่พบสำหรับวิธีนี้คือ การสูญเสียสารที่ระเหยได้ไป มีสารบางส่วนติดบนเครื่องแก้ว หรือมีสารที่ถูกดึงออกไปพร้อมกับไอของ ตัวทำละลาย และไม่สามารถควบคุมกระบวนการที่เกิดขึ้นได้



ภาพที่ 2 แสดงเครื่อง Rotary evaporator

2.3 การวิเคราะห์สารสกัด (งามผ่อง คงคาทิพย์)

การวิเคราะห์สารสกัด แบ่งออกเป็น

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ ได้แก่ การตรวจวัดองค์ประกอบที่รวมกันอยู่ หรือโครงสร้างองค์ประกอบที่ถูกแยกออกมา

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ ได้แก่ การตรวจวัดความบริสุทธิ์ของสารประกอบที่แยกมา หรือความเข้มข้นของสารประกอบเดี่ยวๆ หรือสารประกอบในกลุ่มต่าง ๆ

การวิเคราะห์ทางชีวภาพ ได้แก่ การตรวจวัดทางชีวภาพ หรือประสิทธิภาพ หรือประสิทธิภาพทางการรักษาของสารประกอบ และปริมาณของสารที่สามารถออกฤทธิ์

ปริมาณของสารกลุ่มที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นปัจจัยสำคัญในการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการวิเคราะห์ สำหรับปัจจัยอื่นที่มีความสำคัญ คือ ความแตกต่างของประเภทการวิเคราะห์ตัวอย่าง ซึ่งจำเป็นสำหรับสารที่เป็นของแข็ง ทำให้ชั่งน้ำหนักได้อย่างถูกต้อง และละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยปกติแล้วสารสกัดที่อยู่ในรูปของแข็งนั้นได้มาจากการระเหยสารละลายภายใต้ความดัน

2.3.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

ลักษณะทางธรรมชาติของสาร (กลุ่มของสาร ความถ่วงจำเพาะ ความมีขั้ว) ที่ผสมกันอยู่สามารถตรวจวัดได้จากการตรวจสอบทางเคมีและวิธีโครมาโทกราฟี ในการทดสอบทางเคมี เช่น การเปลี่ยนสี หรือการตกตะกอน เนื่องมาจากการตอบสนองต่อสารที่จำเพาะ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึง

องค์ประกอบต่างๆ ของสาร การทดสอบนี้สามารถใช้ในการตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีในการทดสอบกับสิ่งมีชีวิตได้

การทดสอบทางเคมีสำหรับสารในกลุ่มที่แตกต่างกัน

การทดสอบนี้สามารถแสดงให้เห็นถึงกลุ่มของสารเคมีที่พบในสารสกัด โดยมีวิธีพื้นฐาน คือ การเปลี่ยนสีของสารเมื่อเกิดปฏิกิริยาทางเคมี หรือการตกตะกอนของสารเนื่องมาจากการตอบสนองต่อสารที่จำเพาะ ซึ่งการทดสอบด้วยวิธีเหล่านี้จะสามารถระบุกลุ่มของสารได้

การทดสอบทางเคมีหลายวิธีสามารถดัดแปลงเพื่อที่จะใช้เป็นวิธีการทดสอบจำแนกสารสกัดที่จะนำมาทำเป็นยา โดยสามารถรู้ถึงส่วนประกอบต่างๆ ของสารและสามารถดัดแปลงใช้ TLC หรือการเกิดสีของสารละลายในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

2.3.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ คือ การตรวจวัดจำนวนหรือปริมาณสารตัวอย่าง ซึ่งการปริมาณเบื้องต้นนั้นจะเกิดขึ้นตลอดเวลาตั้งแต่ในระหว่างการสกัด การแยกสารออกเป็นกลุ่มๆและการแยกสารออกเป็นสารเดี่ยวๆ ดังนั้นผลผลิตที่ได้จึงสามารถที่จะคำนวณได้จากผลที่บันทึกไว้ในแต่ละช่วง ซึ่งมีความสำคัญเพราะทำให้ทราบถึงส่วนที่หายไปของตัวอย่าง โดยการวิเคราะห์ขั้นพื้นฐานจะเกี่ยวข้องกับการชั่งน้ำหนัก สำหรับวิธีวิเคราะห์ปริมาณจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่ถูกกำหนดขึ้นก่อนทำการวิเคราะห์ เช่น ความถูกต้อง ความแม่นยำ ความไวของสาร ซึ่งวิธีการต่างๆที่ใช้วิเคราะห์จะต้องยอมรับได้ในระดับมาตรฐาน วิธีการวิเคราะห์โดยทั่วไป ได้แก่

- การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยการไทเทรต
- การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธี spectroscopy
- การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดย TLC
- การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดย GC และ HPLC

วิธีวิเคราะห์ที่นิยมใช้ ได้แก่ GC และ HPLC ซึ่งมีความแตกต่างกันในรายละเอียดของกระบวนการแยกสาร โดยใน GC จะเป็นการแยกระหว่างเฟสคงที่ (stationary phase) และเฟสแก๊ส (gaseous phase) ในขณะที่ HPLC เป็นการแยกระหว่างเฟสคงที่และเฟสของเหลว (liquid phase) ปัจจัยที่ใช้ในการเลือกวิธีหรือเทคนิคที่จะใช้วิเคราะห์คือ ข้อจำกัดของตัวอย่างนั่นเอง เช่นถ้าสนใจเรื่องอุณหภูมิ ตัวอย่างที่ไม่สามารถระเหยได้ที่ 250 องศาเซลเซียสและความมีขั้วสูงไม่สามารถวิเคราะห์โดย GC แต่ใช้ HPLC แทนการแยกองค์ประกอบใน GC นั้น อาศัยหลักความดันไอของสารปะกอบ ซึ่งระเหยได้ที่สัมพันธ์กับเฟสคงที่ที่เป็นของเหลว (liquid stationary phase) ที่เคลือบอยู่บน solid support ในการเคลื่อนผ่านคอลัมน์เข้าไปในตัวนำพาที่เป็นแก๊ส (carrier gas) คอลัมน์ใน GC มี 2ชนิด คือ แพคคอลัมน์ (packed column) และแคพิลารีคอลัมน์ (capillary column)

GC จะประกอบด้วย คอลัมน์ที่มีความยาว 15-30 เมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.1-0.3 มิลลิเมตร ชนิดที่ใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ DB-5 ซึ่งความมีขั้วต่ำใช้ 5 % phenyl และใช้ 95 % methyl silicone เป็นเฟสคงที่จับอยู่บน silica หนาประมาณ 0.25 ไมโครเมตร คอลัมน์ที่ผ่านแก๊สเข้าไปจะถูกวางไว้ในเตาควบคุมอุณหภูมิ carrier gas จะถูกส่งผ่านไปตามท่อ การตั้งโปรแกรมอุณหภูมิสามารถตั้งได้ตั้งแต่อุณหภูมิต่ำๆ ไปจนถึงการแยกสารที่จุดเดือดอุณหภูมิสูง โดยการเพิ่มอุณหภูมิแบบลำดับขั้น หรือแบบเส้นตรงถึงจุดที่มีการแยกซึ่งต่ำกว่าจุดเดือดของสาร อุณหภูมิของคอลัมน์โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 50-250 องศาเซลเซียส ตัวอย่างจะถูกฉีดผ่านเข้าไปยังหัวฉีด (injector) ซึ่งออกแบบมาให้มีขนาดเล็กเพื่อป้องกันสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบมากเกินไป ในกรณีที่ฉีดสารตัวอย่างมากเกินไปในระดับไมโครลิตรตัวอย่างจะผ่านเข้าไปทางช่อง (injector port) และถูกแยกทิ้ง (split) (ทั้งนี้ขึ้นกบการตั้งค่าหัวฉีดว่าเป็น split/splitless) ในกรณีนี้เมื่อสารตัวอย่างเข้าสู่ injector port ที่ถูกให้ความร้อนคงที่ จะมีตัวอย่างเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ที่สามารถผ่านเข้าสู่คอลัมน์ ในขณะที่สารตัวอย่างที่เหลือจะถูกทิ้งไป อัตราส่วนการปล่อยทิ้ง ประมาณ 50:1 หรือ100:1 แต่ถ้าฉีดตัวอย่างที่มีปริมาณต่ำกว่านาโนลิตรสารตัวอย่างจะเข้าสู่คอลัมน์โดยตรง ดังนั้นเข็มฉีดที่ใช้จะถูกกำหนดให้มีลักษณะยาวและบางมากๆเพื่อให้ตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ได้โดยตรง สำหรับเครื่องตรวจวัด (detector) ที่ใช้กันโดยทั่วไปคือ flame ionization detector ถ้าเป็นแบบพิเศษได้แก่ electron capture, thermionic, flame photometric ใช้จะเป็น detector ที่มีความไวสูง คือ สามารถให้ข้อมูลในระดับโครงสร้างโมเลกุลของสารตัวอย่างได้

2.4 เครื่อง spectrophotometer

UV-VIS Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่วัดการดูดกลืนแสงของแสงช่วงความยาวคลื่น 190-800 nm UV-VIS Spectrophotometer ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในห้องปฏิบัติการเพื่อหาปริมาณสารอนินทรีย์ในตัวอย่าง เช่น ไนไตรท์ แอมโมเนีย ฯลฯ โดยวัดการดูดกลืนแสงของสารประกอบที่มีสีเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

2.4.1 ธรรมชาติของแสง

แสงเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic wave) แสงมีความเร็วในสุญญากาศเท่ากับผลคูณของความยาวคลื่น (λ) และความถี่ (v) แต่ความเร็วในการเดินทางจะเปลี่ยนไปเมื่อเดินทางผ่านตัวกลางอื่นๆ โดยมีความเร็วในการเดินทางเท่ากับ 2.9979×10^{-16} ซม./วินาที/n (n = ดรรชนีหักเหของตัวกลาง, refractive index) แสงต่างชนิดกันจะมีความยาวคลื่นต่างกันและเคลื่อนที่ด้วยความเร็วแตกต่างกันความเข้มของแสงนิยมวัดในหน่วยกำลังเทียน (candle power) หรือลูเมน (lumen) ปริมาณแสงแปรผันโดยตรงกับความเข้ม (intensity) ของแสง ดังนั้นการวัดความเข้มของแสงจึงเป็นการวัดปริมาณแสงทางอ้อม

ความยาวคลื่นแสงนิยมแทนด้วยอักษรกรีกคือ λ (แลมบ์ดา, lambda) แสงแต่ละช่วงความยาวคลื่น แสงที่มองเห็น (visible light) เป็นแสงสีขาวที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีต่างๆ มีสีหลักอยู่ 7 สี คือ สีม่วง สีคราม สีน้ำเงิน สีเขียว สีเหลือง สีแสด และสีแดง มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-700 nm เมื่อแสง สีขาวตกกระทบวัตถุแล้วทำให้มองเห็นวัตถุเป็นสีใดแสดงว่าวัตถุดูดกลืนแสงสีอื่นหมดแต่สะท้อนแสงสีที่ตามองเห็นออกมา แต่ถ้าวัตถุนั้น ๆ ดูดกลืนแสงทุกสีไว้ได้หมดจะมองเห็นวัตถุเป็นสีดำ

แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet light) มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 210-380 nm เป็นแสงที่มีคุณสมบัติในการทำให้อิเล็กตรอนของอะตอมเกิดการส่งผ่าน (electronic transmission) เมื่อร่างกายถูกแสงนี้เป็นเวลานานอาจเกิดอันตราย ตัวอย่างเช่น ผิวหนังไหม้เกรียม เยื่อบุลูกตาถูกทำลาย และอาจทำให้เกิดเป็นมะเร็งของผิวหนังได้ เนื่องจากแสงอัลตราไวโอเลตทำให้ไธมินเบส (thymine base) ในนิวเคลียสของเซลล์รวมตัวกัน

แสงอินฟราเรด (infrared light) เป็นแสงที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า สามารถทำให้โมเลกุลของวัตถุต่างๆ เกิดการสั่นสะเทือนอย่างรุนแรงจนเกิดความร้อนขึ้นมาก เนื่องจากวัตถุส่วนใหญ่ดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นในช่วง 3,000-100,000 nm ได้ดี ดังนั้นจึงนิยมใช้รังสีอินฟราเรดในการทำให้วัตถุต่างๆ แห้ง เพราะมีประสิทธิภาพในการทำให้แห้งสูงกว่าการใช้ความร้อนแบบธรรมดา

2.4.2 กฎแห่งการดูดกลืนแสง

1) กฎของแลมเบิร์ต (ค.ศ.1760) กล่าวว่า แสงที่ถูกดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน

$$I_t = I_o \times 10^{-kt} \quad \text{.....(1)}$$

2) กฎของเบียร์ (Beer's law) กฎของเบียร์ (ค.ศ.1852) กล่าวว่า แสงที่ถูกดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารในของเหลว ซึ่งเมื่อคำนวณเช่นเดียวกับกฎของแลมเบิร์ตจะได้สมการ

$$I_t = I_o \times 10^{-kc} \quad \text{..... (2)}$$

เมื่อรวมกฎทั้งสองเข้าด้วยกัน(Beer-Lambert's law) โดยการบวกสมการที่ (1) และสมการที่ (2) จะได้สมการใหม่ดังนี้

$$I_t = I_o \times 10^{-\varepsilon ct} \quad \text{.....(3)}$$

แต่แสงส่องผ่าน (transmittance, T) มีค่าเท่ากับ I_t/I_o และแสงที่ถูกดูดกลืน (absorbance, A หรือ optical density, OD) มีค่าเท่ากับ log (I_o/I_t) ดังนั้น

$$A = \varepsilon ct \quad \text{.....(4)}$$

หรือ

$$A = -\log T \quad \text{.....(5)}$$

ε = molar absorptivity สารแต่ละชนิดมีค่า ε คงที่ในแต่ละช่วงคลื่น มีหน่วยเป็น $mole^{-1}cm^{-1}$

c = ความเข้มข้นของสารในหน่วย mole/L

t = ความหนาของสารละลายในหน่วย ซม.

2.4.3 ชนิดของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

1) ชนิดลำแสงเดี่ยว (single beam type) ใช้ลำแสงลำเดียวกันสำหรับวัดสารอ้างอิง(reference หรือ blank) และสารตัวอย่าง (sample) การวัดความเข้มแสงกระทำโดยปรับ 0 %T แล้วปรับ 0A หรือ 100 %T ด้วยสารอ้างอิง หลังจากนั้นวัดค่าของสารตัวอย่างในหน่วย A หรือ %T ชนิดลำแสงเดี่ยวมีข้อดีตรงที่มีองค์ประกอบน้อย และมีแสงผ่านไปยังสารตัวอย่างมากกว่าแบบอื่นๆ แต่มีข้อเสียตรงที่มีเสถียรภาพในการอ่านค่าต่ำและค่าเปลี่ยนแปลงได้ง่าย นอกจากนี้ยังไม่สามารถกวาด (scan) ดูการดูดกลืนของแสงต่างๆ อย่างต่อเนื่องได้

2) ชนิดลำแสงคู่ (double beam type) วัดความเข้มของแสงโดยการสะท้อนแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสงให้ผ่านสารอ้างอิงและสารตัวอย่างสลับกัน ทำให้ความเข้มแสงที่ผ่านตัวอย่างลดลงครึ่งหนึ่ง วงจรจะขยายสัญญาณที่ได้จากการเปรียบเทียบสัญลักษณ์ที่ได้รับจากสารตัวอย่างกับสารอ้างอิงอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นจึงมีเสถียรภาพในการวัดความเข้มของแสงดีมาก แต่เครื่องวัดชนิดนี้มีองค์ประกอบซับซ้อน เนื่องจากใช้ตัวไวแสงอันเดียวจึงต้องมีวงจรเลือกวัดสัญญาณและใช้หลอดไฟฟ้ากำเนิดแสงมีกำลังส่องสว่างสูง จึงทำให้มีราคาแพงกว่าเครื่องมือชนิดลำแสงเดี่ยว

2.5 สารสำคัญที่พบในพืช (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ 2549)

สารประกอบทางเคมี ในพืชสมุนไพร จำแนกได้เป็น 2 พวกใหญ่ ๆ

1. สารปฐมภูมิ (primary metabolite) เป็นสารที่มีอยู่ทั่วไปในพืชชั้นสูงซึ่งเป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เป็นต้น ซึ่งบางชนิดก็มีฤทธิ์ทางยา

2. สารทุติยภูมิ (secondary metabolite) เป็นสารกลุ่มที่เกิดจากขบวนการชีวสังเคราะห์ เป็นสารประกอบที่พบต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ในพืชแต่ละชนิด และส่วนใหญ่เป็นสารที่จะมีสรรพคุณทางยา หรือมีฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.5.1 สารปฐมภูมิ

1) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เป็นกลุ่มสารที่พบทั้งในพืชและสัตว์ ในพืชคาร์โบไฮเดรต มักถูกสร้างขึ้นโดยการสังเคราะห์แสง และถูกเก็บสะสมไว้เป็นอาหารของพืช และถูกนำมาใช้เป็นอาหารของทั้งคนและสัตว์

คาร์โบไฮเดรตแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ๆ คือ

น้ำตาล (sugars) ซึ่งแบ่งได้เป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยว (monosaccharidees หรือ simple sugar) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 3-9 ตัว และน้ำตาลเชิงซ้อนซึ่งเกิดจากน้ำตาลเชิงเดี่ยวตั้งแต่ 2 หน่วยขึ้นไปจักกับกัน

อนุพันธุ์ของน้ำตาล (sugar derivatives) ได้แก่ น้ำตาลที่อยู่ในรูปสารประกอบต่างๆได้แก่ sugar alcohols เช่น แมนนิทอล (manitol) sugar acids, sugar esters และ กลัยโคไซด์ (glycosides) ชนิดต่างๆ

โพลีแซคคาไรด์และโพลียูรีไนด์ (polysaccharides and polyuronides) โพลีแซคาไรด์ พบได้บ่อย เช่น แป้ง กลัยโคเจน(glycogen) และเซลลูโลส (cellulose) โพลียูโรไนด์ที่สำคัญเช่น pectin , gum , mucilage

คาร์โบไฮเดรตมีความสำคัญทางด้านเภสัชกรรม เช่น แป้ง ใช้ในการตอกยาเม็ด กัมอะเคเซีย (acacia gum) กัมทรากาคานท์ (tragacanth gum) methyl cellulose, carboxymethyl celluloseใช้เป็นสารแขวนตะกอน (suspending agent) น้ำตาลทราย ใช้ในยาน้ำ วุ้น (agar) ใช้เป็นยาระบาย และใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ วิตามิน ซี (Ascorbic acid)เป็นวิตามินที่ใช้ป้องกันและรักษาโรคลักปิดลักเปิด นอกจากนี้ น้ำตาลบางชนิดยังจับกับสารอื่นปรากฏในรูปกลัยโคไซด์ สารประกอบกลัยโคไซด์บางชนิดมีฤทธิ์ในการรักษาโรค

2) สารในกลุ่มไขมัน (Lipids)

Lipids เป็นเอสเตอร์ที่เกิดจากกรดไขมันชนิดโมเลกุลยาวจับกับแอลกอออล์ แบ่งออกเป็นน้ำมันไม่ระเหย (fix oil) ไขมัน (fat) และไข (wax)

ไขมันและน้ำมันไม่ระเหย ส่วนใหญ่ได้มาจากส่วนเมล็ดพืช มักใช้ทำอาหาร และทางเภสัชกรรม ไขมันมีสภาพเป็นกึ่งของแข็งกึ่งของเหลว น้ำมันไม่ระเหยมีจุดหลอมเหลวต่ำ ในอุณหภูมิห้องอยู่ในสภาพของเหลว น้ำมันไม่ระเหยที่นำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมมีหลายชนิด เช่น น้ำมันละหุ่ง ใช้เป็นยาระบายอย่างแรง น้ำมันมะกอกใช้ช่วยหล่อลื่น (emollient) และเป็นยาระบาย น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันข้าวโพด ใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับยาฉีด น้ำมันมะพร้าวใช้ในการทำสบู่ และแชมพู นอกจากนั้นยังใช้น้ำมันไม่ระเหยในการเตรียมอีมัลชัน

ไข(wax) ใช้ในการเตรียมยาขี้ผึ้ง ครีม เช่น ขี้ผึ้ง (bees wax) และ carnuba wax โปรตีน กรดอะมิโน และเอนไซม์

3) โปรตีน (Protein)

โปรตีน เป็นสารอินทรีย์ที่มีในโตรเจนอยู่ในโมเลกุล เกิดจากกรดอะมิโนมาจับกันเป็นโมเลกุลใหญ่ โปรตีนถูกสร้างขึ้นในสิ่งมีชีวิตทั้งในพืชและสัตว์ พืชมักเก็บโปรตีนไว้ในรูปเม็ด aleurone

ประโยชน์ของโปรตีน นอกจากใช้เป็นอาหารแล้วยังใช้ในการรักษา เช่น serum, globulins, antitoxin ในทางเภสัชกรรมใช้ gelatin เป็นสารเคลือบยาเม็ด สารแขวนตะกอนในยาน้ำ และใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ microfibrilla collagen ใช้ทำให้เลือดหยุดไหล

กรดอะมิโน มีความสำคัญในขบวนการเมทาโบลิซึมในพืชชั้นสูง

เอนไซม์ เป็น colloid ที่ละลายในน้ำ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาโดยทำงานได้ดีในอุณหภูมิ 35-40 °C เอนไซม์มักทำหน้าที่ร่วมกับสารอินทรีย์ หรืออนินทรีย์ในการเร่งปฏิกิริยา เอนไซม์มีประโยชน์หลายอย่างเช่น ช่วยในการย่อยแป้ง และโปรตีน ช่วยให้เลือดหยุดไหล

2.5.2 สารทุติยภูมิ

1) แอลคาลอยด์ (alkaloids)

แอลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารที่พบมากในพืชชั้นสูง พบบ้างในพืชชั้นต่ำ สัตว์ และจุลินทรีย์ เป็นกลุ่มสารที่ถูกนำมาใช้มากในการเป็นยารักษาโรค และส่วนหนึ่งเป็นสารพิษปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด

แอลคาลอยด์เป็นสารอินทรีย์ที่มีลักษณะโดยรวมคือส่วนใหญ่มีฤทธิ์เป็นด่างและมีไนโตรเจน (nitrogen) อยู่ในโมเลกุล มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เป็นสารที่พบมากในพืชใบเลี้ยงคู่ ที่พบได้บ่อย เช่น วงศ์ Apocynaceae, Papaveraceae, Papilionaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Menispermaceae, Lauraceae, Solanaceae, Loganiaceae, Berberidaceae และ Compositae พืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่พบแอลคาลอยด์ เช่น วงศ์ Liliaceae และ Amaryllidaceae

ปริมาณแอลคาลอยด์ในพืชแต่ละชนิดจะสร้างและสะสมแอลคาลอยด์ปริมาณต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น อายุของพืช อุณหภูมิ แสงสว่าง ฤดูกาล ความชื้นในอากาศ ปริมาณน้ำในดิน ความอุดมสมบูรณ์ของพื้นดิน ปริมาณน้ำฝน เป็นต้น

แอลคาลอยด์มีการสะสมในเกือบทุกส่วนของพืช เช่น ใบ เส้นใบ ขน ดอก ผล เมล็ด ราก เปลือก หัวใต้ดิน ช่องว่างภายในเซลล์ (vacuole)

หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืชยังไม่ทราบแน่ชัด คาดว่าแอลคาลอยด์ทำหน้าที่ช่วยป้องกันพืชจากสัตว์และแมลงต่างๆ เนื่องจากสารกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีรสขมและเป็นพิษ เป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนในพืชเพื่อใช้สร้างโปรตีน ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น

แอลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารประเภทที่ให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลายระบบ ตัวอย่างของแอลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่

- เอฟริดีน (ephedrine) ได้จากต้นมั่วอี๊ง หรือมาฮวง (*Ephedra equisetina* Bunge) และจากใบหญ้าขัดใบป้อม (*Sida cordifolia* L.) มีฤทธิ์ขยายหลอดลม จึงใช้เป็นยารักษาโรคหอบหืด และยังมีผลทำให้ม่านตาขยายด้วย

- คอลชิซิน (Colchicine) ได้จากส่วนเมล็ด และลำต้นใต้ดิน (corm) ของ *Colchicium autumnale* L. มีฤทธิ์ระงับอาการปวดและอักเสบจากโรคเก๊าท์

- ริซินีน (ricinine) ได้จากเมล็ดและใบของระหุ่ง (*Ricinus communis*) เป็นสารพิษที่ทำให้เกิดการอาเจียน คลื่นไส้ ความดันโลหิตต่ำ มีพิษต่อตับ และไต ทำให้หยุดหายใจและตายได้

- โคเคน (cocain) ได้จากใบโคคา (*Erythroxylon coca*) ซึ่งใช้เป็นยาชาเฉพาะที่ชนิดแรกที่ได้จากธรรมชาติ แต่เนื่องจากมีฤทธิ์ทำให้เกิดอาการประสาทหลอนและอาการเคลิ้มฝันด้วย ใช้นานๆอาจติดได้ ปัจจุบันจึงใช้เป็นยาชาเฉพาะที่ที่ใช้ภายนอก

- มอร์ฟีนและโคเดอีน (morphine และ codeine) พบในยางกรีดจากผลของต้นฝิ่น (*Papaver somniferum* Linn) ใช้เป็นยาระงับปวดที่ได้ผลดีมากแต่ข้อเสียทำให้เกิดการเสพติดได้

- คาร์ทราแรนทัส แอลคาลอยด์ (Catharanthus alkaloids) ได้จากทั้งต้นของแพงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus* N. Don.) แอลคาลอยด์ในกลุ่มนี้มีมากมาย ที่สำคัญและใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็งอยู่ในปัจจุบัน ได้แก่ วินบลาสตีน และวินคริสตีน (vinblastine และ vincristine)

- แคฟเฟอีน (caffein) เป็นแอลคาลอยด์ที่ได้จากใบเลี้ยงต้นอ่อนของโคล่า (*Cola nitida*) ได้จากเมล็ดสุกของต้นกาแฟ (*Coffea arabica* Linn.) และได้จากใบชา (*Camellia sinensis*) คาเฟอีนมีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง ทำให้ร่างการตื่นตัวกระตุ้นระบบทางเดินหายใจและขับปัสสาวะได้

- นิโคตีน (Nicotine) จากใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L) มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท และทำให้กล้ามเนื้อเป็นอัมพาต ใช้เป็นยาฆ่าแมลง

- อะโทรปีน และ ไฮออสไซยามีน (Atropimne , Hyoscyamine) มีฤทธิ์ขยายม่านตา ลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

2) น้ำมันหอมระเหย (volatile oil, ethereal oil,essntial oil)

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารที่มีลักษณะเป็นน้ำมันซึ่งได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ (distillation) การบีบ(Expression) การสกัดด้วยสารเคมี (Extraction) พบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง มีกลิ่นเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิปกติ เบากว่าน้ำ น้ำมันนี้เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด มักพบในพืชสมุนไพรที่เป็นเครื่องเทศเช่นวงศ์ Zingiberaceae เช่น ข่า ขิง ตะไคร้ วงศ์ Rutaceae, Lamiaceae, Umbelliferae เป็นต้น สารกลุ่มนี้มักเป็นสารที่ให้ฤทธิ์ขับลมและฆ่าเชื้อโรค

น้ำมันหอมระเหยมักจะไม่มีสี แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้นานๆ อาจจะถูกออกซิไดซ์ ทำให้สีเข้มขึ้นจึงควรเก็บในขวดสีชาที่ปิดสนิท เก็บไว้ในที่แห้งและเย็น

น้ำมันหอมระเหยถูกนำมาใช้ประโยชน์หลายๆด้าน เช่น ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมอาหาร และยา นอกจากนี้ยังใช้ในการรักษาบรรเทาอาการต่างๆโดยตรง เช่น Aromatherapy

3) เรซิน และบาลซัม (Resins and balsams)

เรซินเป็นสารประกอบรูปร่างไม่แน่นอน เมื่อเผาไฟจะได้ของเหลวใส เรซินที่นำมาใช้ในทางเภสัชกรรมเช่น ชันสน ใช้ในอุตสาหกรรมพลาสเตอร์

โอเลโอเรซิน เป็นสารผสมระหว่างเรซินกับน้ำมันหอมระเหย ยางสน(terpentine) โอเลโอเรซินในพริก และขิงเป็นต้น

โอเลโอ-กัม-เรซิน เป็นสารผสมระหว่างกัมและโอเลโอเรซิน เช่น มหาหิงค์ (asafoetida) มดยอบ (myrrh)

4) กลัยโคไซด์ (glycosides)

กลัยโคไซด์เป็นสารกลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่งที่พบมากในพืชสมุนไพร พบมากในพืชชั้นสูง พบน้อยในพืชชั้นต่ำ ในเกือบทุกส่วนของพืช เช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด เปลือก ราก หัว โดยที่โครงสร้างหลักจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล (glycone) และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล (aglycone) สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี เนื่องจากมีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลมีโครงสร้างที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีผลทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของกลัยโคไซด์ต่างกัน อาทิเช่น มีฤทธิ์เป็นยาระบาย ยาลดการอักเสบ เป็นต้น และทำให้สามารถแบ่งชนิดของกลัยโคไซด์ได้หลายชนิด

กลัยโคไซด์พบในพืชชั้นสูง ทั้งใบเลี้ยงเดี่ยว เช่นวงศ์ Liliaceae และใบเลี้ยงคู่ เช่น วงศ์ Rubiacae, Leguminosae, Euphorbaiceae เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบใน lichen, fungi เช่น *Penicillium* ตัวอย่างของกลัยโคไซด์ที่นำมาใช้ในทางยา

(1) แอนทราควิโนน กลัยโคไซด์ (anthraquinone glycosides) พบมากในพืชวงศ์ Leguminosae เป็นสารกลุ่มที่มีอนุพันธ์ของแอนทราซีน (anthracene) เป็นส่วนประกอบของส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล (ส่วน aglycone) ตัวอย่างเช่น

แอนทราควิโนน กลัยโคไซด์ในใบและฝักมะขามแขก (*Cassia acutifolia* Delile และ *C. angustifolia* Vahl) ซึ่งมีสารที่เรียกว่า เซนโนไซด์ เอ และเซนโนไซด์ บี (sennoside A และ sennoside B) ที่ให้ฤทธิ์เป็นยาระบาย

อะโลอิน และบาบาโลอิน (aloin และbarbaloin) พบในเปลือกของใบว่านหางจระเข้ (*Aloe spp*.) ใช้เตรียมยาดำ ซึ่งเป็นยาถ่าย

(2) ฟลาโวนอยด์ กลัยโคไซด์ (Flavonoid glycosides) เป็นสารกลุ่มที่มีอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบในส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล ซึ่งฟลาโวนอยด์ยังแบ่งเป็นกลุ่มย่อยอีกหลายชนิด ตัวอย่างเช่น ฟลาโวนส์ และฟลาโวนอลส์เป็นสารที่ให้สี (สีเหลือง) ที่พบมากในพืชจำนวนมาก; ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoids) หลายชนิดซึ่งพบมากในพืชตระกูลถั่วเป็นสารที่ให้ฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนเพศหญิง เช่น daidzein ในถั่วเหลือง เป็นต้น

(3) คาร์ดิแอค กลัยโคไซด์ (cardiac glycosides) เป็นกลัยโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจและการไหลเวียนของโลหิต ตัวอย่างเช่น

- องค์ประกอบของคาร์ดิแอค กลัยโคไซด์ ที่พบใน *Digitalis purpurea* และ *D. lanata* ใช้เป็นยารักษาอาการของโรคหัวใจที่มีรูปแบยาเตรียมต่างๆ

(4) ซาโปนิน กลัยโคไซด์ (saponin glycosides) เป็นสารกลุ่มที่เกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ จึงเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ดี ใช้เป็นสารชะล้างแทนสบู่ได้ ตัวอย่างเช่น ลูกประคำดีควาย

5) แทนนิน (tannin)

แทนนินเป็นสารรสฝาดที่พบได้ทั่วไปในพืช มีฤทธิ์ฝาดสมาน และมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ส่วนใหญ่อยู่ในรูปกลัยโคไซด์ จับกับโมเลกุลของน้ำตาล

ตัวอย่างของแทนนินที่นำมาใช้ในทางยา

(1) แทนนิค เอซิด (tannic acid) ใช้เป็นส่วนผสมในตำรับยาแก้ท้องเสีย หรือใช้กับบาดแผลที่ผิวหนัง

(2) สารฝาดสมาน ที่พบในใบฝรั่ง ในเนื้อของกล้วยน้ำว้าดิบใช้รักษาโรคท้องร่วง

สารสำคัญกลุ่มหลักที่พบในสีเสียดไทย คือ สารกลุ่มแทนนิน (tannins) ที่ทำให้พืชสมุนไพรชนิดนี้มีรสฝาด ได้แก่ catechutannic acid ในปริมาณ 20-35% acacatechin, epicatechin,phlobatannin, protocatechu tannins, pyrogallic tannins, epicatechin-3-*O*-

gallate, epigallocatechin-3-*O*-gallate นอกจากนี้ยังพบสาร catechu red และ caffeine รวมทั้งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavoniods) ได้แก่ quercetin, quercetagetin, fisetin, flavanol dimers, flavonolglycosides และ catechins

2.6 สารประกอบฟลาโวนอยด์และการต้านอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ 2549)

2.6.1 Flavonoids

Flavonoids เป็นสารประกอบกลุ่มพอลิฟีนอล ซึ่งประกอบด้วยวงอะโรมาติกตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป โดยมีการจับกับคาร์บอนและ aromatic hydroxyl

สารประกอบ flavonoids สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามระดับการออกซิเดชั่นและหมู่ฟังก์ชันของ C ring คือ flavonol, flavonones, flavones, isoflavones, flavonols และ anthocyanidins

สารประกอบ flavonoid อาจเรียกได้ว่าเป็นสาร nutraceutical ซึ่งหมายถึงอาหารหรือองค์ประกอบของอาหารที่สามารถนำมาใช้เป็นยาหรือมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้งในด้านการป้องกันและการรักษาโรค โดยมีประโยชน์ดังนี้

1) สาร antioxidant พบว่ากลุ่มของสารประกอบ flavonoid ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สาร flavone และ catechin สามารถช่วยป้องกันการถูกทำลายของเซลล์และเนื้อเยื่อร่างกายจากอนุมูลอิสระและออกซิเจนอิสระ (reactive oxygen species, ROS) ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของสารประกอบ flavonoid แสดงได้ดังนี้ Myrcetin > Quercetin > Rhamnetin > Morin > Diosmetin > Naringenin > Apigenin > Catechin > 5,7-dihydroxy-3’,4’,5’-trimethoxy-flavone > Robinin > Kaempferol > Flavone

2) สาร antimicrobial เช่นสาร Quercetin มีคุณสมบัติเป็น antibacterial สาร Nobiletin, Langeritin และ Hesperidin มีคุณสมบัติเป็น antifungal

3) สาร antiviral เช่น สาร Quercetin, Morin, Rutin, Dihydroquercetin, Apigenin, Catechin และ Hespiridine ช่วยในการต้านทานไวรัสได้ 11 ชนิด

4) สาร anti-inflammatory เช่น สาร Kaempeferol, quercetin, myricetin และ fisetin

5) สาร antidiabetic ได้แก่ สาร Quescetin โดยพบว่าช่วยกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินและเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมแคลเซียมซึ่งมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2

6) ผลต่อระบบไหลเวียนโลหิต พบว่าการได้รับสาร flavonoid จะช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง ภาวะการมีไขมันในเลือดสูงและหลอดเลือดแดงแข็งตัว การแข็งตัวของเลือด

2.6.2 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (อังกฤษ: radical และมีการใช้ free radical) หมายถึง สารซึ่งมีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอม หรือโมเลกุล เราให้ความสำคัญกับสารซึ่งมีออกซิเจนเป็นศูนย์กลาง คือ hydroxyl radical, superoxide, peroxyl, alkoxyl และ oxides ของ nitrogen โดยปกติสารเหล่านี้เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว โดยเฉพาะเวลามีธาตุเหล็ก ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์ โครเมียม นิเกิล อยู่เป็นจำนวนน้อยๆ มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และร่างกายก็จะมีระบบของแอนติออกซิเดชันขจัดออกไป แต่ถ้าร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอกมากเกินไป ตัวอย่างเช่น ได้รับจากอาหารบางชนิด จากขบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่อุณหภูมิสูงๆ มาใช้อีก หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสี ultraviolet การแผ่รังสี (radiation) รังสี x-ray หรือจากมลพิษ เช่น ควันบุหรี่ ก๊าซจากท่อไอเสียรถยนต์ ถ้าสารเหล่านี้มีมากกว่าความสามารถของการเป็นตัวต้านออกซิเดชันในร่างกายจะขจัดหมด หรือในภาวะที่จำนวนตัวต้านออกซิเดชันในร่างกายลดลง เช่น ผู้สูงอายุจะทำให้มีสารอนุมูลอิสระและสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระเช่น ไฮโดรเจนเพอออกไซด์ ซึ่งมีออกซิเจนเป็นศูนย์กลางเช่นกัน โดยรวมเรียกว่า reactive oxygen species (ROS) มากเกินไปก่อให้เกิดอันตรายได้

อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะ low density lipoprotein) โปรตีน หน่วยสารพันธุกรรม DNA และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะไม่กล่าวถึงรายละเอียดในที่นี้ ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด Alzheimer's disease หรือโรคความจำเสื่อม โรคไขข้ออักเสบ โรคความแก่ เป็นต้น

ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงการที่จะได้รับสารอนุมูลอิสระเข้าไปในร่างกาย เช่น มลพิษในสิ่งแวดล้อม ก๊าซจากท่อไอเสียรถยนต์ ควันบุหรี่ เป็นต้น

อนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ ROS เป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ1 หรือ 10^{-3}-10^{-10} วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัด ด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุลชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ (free radicals) และ Reactive oxygen species (ROS) มีดังนี้

Superoxide anion radical	$O^{\bullet}_2$
Hydroxyl radical	$HO^{\bullet}$
Peroxide radical	$ROO^{\bullet}$
Peroxyl radical	$LOO^{\bullet}$
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Ozone	O_3
Singlet oxygen	$1O_2$
Hydrogen radical	$H^{\bullet}$
Methyl radical	$CH^{\bullet}_3$

ชนิดของอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้อย่างง่ายๆ คือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง

2. อนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย

2.1 การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส

2.2 การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (autoimmune diseses) เช่น ข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคเก๊าท์

2.3 รังสี

2.4 สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง

โดยหลักการทางเคมีอนุมูลอิสระ และ ROS เกิดโดย

1. ปฏิกิริยาการแยกอย่างสมมาตร (symmetric separation)

$$X - X \text{ ------> } X^{\bullet} + X^{\bullet}$$

2. อนุมูลอิสระอื่นๆ

$$X^{\bullet} - HR \text{ ------> } HX + R^{\bullet}$$

จากที่กล่าวมาแล้วว่าอนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาทั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง และในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วย

มลพิษโดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกัน การโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง ก็คือระบบการต้านออกซิเดชัน (antioxidants) ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ก็สามารถจะชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร (substrate)ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยสาร (substrate)

เหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบตัวต้านออกซิเดชันสามารถจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆ ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุ ของการแก่ (aging) และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (autoimmune disease) โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน(reoxyge-nation injury, reperfusion injury) รวมไปถึงโรคมะเร็งเป็นต้น

การทำลายโมเลกุลที่เป็นสาเหตุการเกิดของอนุมูลอิสระนับเป็นกลไกการทำงานของระบบตัวต้านออกซิเดชันที่สำคัญกลไกหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่อาศัยเอนไซม์หรือไม่ก็ได้

1) การต้านอนุมูลอิสระ

โดยปกติจะมีการกล่าวถึงเฉพาะอนุมูลอิสระ (free radicals) ที่เป็นสาเหตุการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายเรา แต่แท้จริงแล้ว Reactive oxygen species (ROS) คือตัวการสำคัญอีกตัวหนึ่ง โดย ROS จะรวมถึง โมเลกุลที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่เป็นทั้งอนุมูลอิสระ (radicals) หรือที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ (nonradicals) ก็ได้

สารตัวต้านออกซิเดชันที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่

Superoxide dismutase (SOD)

Catalase (CAT)

Glutathione peroxidase (GPX)

Glutathione reductase (GR)

Glutathione S-transferase (GST)

ส่วนสารตัวต้านออกซิเดชันที่พบในร่างกาย แต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่

Glutathione	Lipoic acid
Ceruloplasmin	Albumin
Transferrin	Haptoglobin
Hemopexin	Uric acid
Bilirubin	Cysteine

ส่วนสารตัวต้านออกซิเดชันที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่

Tocopherols	Carotenoids
Ascorbic acid	Steroids
Ubiquinones	Thiols
Inosine	Taurine
Pyruvate	Gallic acid
Flavonoids	Trolox
BHT	BHA

สารตัวต้านออกซิเดชันเหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระ ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่

การหาขีดความสามารถในการเป็นตัวต้าน อนุมูลอิสระของสารตัวต้านออกซิเดชันส่วนใหญ่ ทำโดยอาศัยหลักการดังรูปที่ 1 นั่นคือ ขั้นแรกจะเป็นสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาก่อน แล้วจึงเติมสารตัวต้านออกซิเดชันลงไป จากนั้นทำการตรวจวัดหาอนุมูลอิสระที่เหลือหลังจากการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งหลักการนี้สามารถนำไปใช้ได้อย่างหลากหลาย ขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของตัวกำเนิดอนุมูลอิสระ และชนิดของตัว ตรวจวัดอนุมูลอิสระ ดังแสดงในตารางที่ 1 เป็นวิธีการตรวจวัดขีดความสามารถของสารตัวต้านออกซิเดชันในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นวิธีที่มีการใช้อย่างแพร่หลายและรายงานไว้โดยนักวิจัยกลุ่มต่างๆ

2.7 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับรังสีอัลตราไวโอเลต

2.7.1 ความหมายและประเภทของรังสีอัลตราไวโอเลต

รังสีอัลตราไวโอเลต เป็นส่วนหนึ่งของรังสีดวงอาทิตย์ที่ส่องถึงพื้นโลก รังสีดวงอาทิตย์ (Solar Radiation) เป็นพลังงานในรูปคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่แผ่รังสีออกจากดวงอาทิตย์ ประกอบด้วยสเปคตรัม ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 แถบกว้างๆ (Khazaeli. 2008)

มีการศึกษาเกี่ยวกับรังสีดวงอาทิตย์ในบรรยากาศและพบสัดส่วนของพลังงานรังสีดวงอาทิตย์ที่นอกบรรยากาศ ต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลา และรังสีมีแนวตั้งฉากกับพื้นที่ ที่ระยะทางระหว่างโลกกับดวงอาทิตย์เฉลี่ยทั้งปี เป็นดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 พลังงานรังสีดวงอาทิตย์

Spectral	Wavelengths (nm)	Irradiance (W/m^2)	% Of Total
Solar constant	All	1370	100
Infrared	> 700	677	49.4
Visible	400-700	580	42.3
UV-A	320-400	86	6.3
UV-B	280-320	21	1.5
UV-C & shorter	< 280	6	0.5

นอกจากนี้ยังพบว่ารังสีดวงอาทิตย์ในเดือนมกราคม มากกว่าในเดือนกรกฎาคม ถึง 6.9 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจาก ระยะทางระหว่างโลกและดวงอาทิตย์ ใกล้ที่สุดในวันที่ 3 มกราคม ประมาณ 147 ล้านกิโลเมตร และห่างที่สุดวันที่ 4 กรกฎาคม ประมาณ 152 ล้านกิโลเมตร แต่รังสีฯ ที่ตรวจวัดได้ในเดือนมกราคมไม่สูงกว่าเดือนกรกฎาคมสำหรับประเทศไทยเพราะว่าแกนของโลกเอียงไปทางซีกโลกใต้ทำให้ประเทศไทยซึ่งอยู่ซีกโลกเหนืออยู่ห่างกว่าซีกโลกใต้และมีแนวดวงอาทิตย์เหนือศีรษะมาก รังสีอัลตราไวโอเลตจึงไม่เข้มที่สุดในเดือนมกราคม

1) บทบาทของรังสีอัลตราไวโอเลต

รังสีดวงอาทิตย์มีบทบาทสำคัญต่อธรรมชาติเพราะว่าก่อให้เกิดภูมิอากาศของโลก และมีอิทธิพลต่อสิ่งแวดล้อมอย่างยิ่ง สเปคตรัมของดวงอาทิตย์ช่วงอัลตราไวโอเลตมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีววิทยาหลายประการแต่ก็มีอันตรายหากได้รับรังสีอัลตราไวโอเลตในปริมาณที่มากเกินไปเช่นความสามารถในการปรับและป้องกันตัวของสิ่งมีชีวิตบางชนิดรวมทั้งมนุษย์จะเสื่อมถอยลง และจะเป็นอันตรายขั้นรุนแรงต่อไปโดยเฉพาะผิวหนังและตา ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงรังสีอัลตราไวโอเลตที่มีความเข้มสูงจึงควรมีวิธีป้องกันและจำกัดการรับรังสีดวงอาทิตย์

2) ชนิดรังสีอัลตราไวโอเลต

รังสีดวงอาทิตย์ประกอบด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) รังสีช่วงแสงสว่าง (Visible) และอินฟราเรด (Infrared) รังสีมีคุณสมบัติตามช่วงคลื่น มักแสดงในหน่วยนาโนเมตร (nanometer, nm = 10^{-9}m) เพื่อที่จะอธิบายผลกระทบทางชีววิทยา สเปคตรัมรังสีอัลตราไวโอเลต (Solar Ultraviolet Spectra) ประกอบด้วย 3 ส่วน

UV-C ช่วงคลื่น 100-280 นาโนเมตร ถูกดูดกลืนเกือบทั้งหมดโดย โอโซน และออกซิเจนในบรรยากาศ

UV-B ช่วงคลื่น 280-315 นาโนเมตร ถูกดูดกลืนเป็นส่วนใหญ่และส่องถึงพื้นโลกประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์

UV-A ช่วงคลื่น 315-400 นาโนเมตร ไม่ดูดกลืนโดยโอโซน แต่ส่วนมากไม่ทำลายสิ่งมีชีวิต

รังสีอัลตราไวโอเลตสามารถวัดได้ในรูปพลังงานการแผ่รังสีตกกระทบต่อหน่วยพื้นที่ (Irradiance) ที่ใช้หน่วยเป็นวัตต์ต่อตารางเมตร (w/m^2) หรือในรูปพลังงานตกกระทบต่อหน่วยพื้นที่ในช่วงเวลาที่กำหนด (Radiant Exposure or dose) ใช้หน่วยจูลต่อตารางเมตร (J/m^2)

2.7.2 ผลกระทบจากรังสีอัลตราไวโอเลต

สามารถแบ่งประเภทผลกระทบจากรังสีไวโอเลตได้ 3 ประเภท คือ

1) ผลกระทบต่อมนุษย์

รังสีอัลตราไวโอเลต มีทั้งคุณและโทษต่อสุขภาพมนุษย์ คุณประโยชน์ของรังสีอัลตราไวโอเลตคือ ช่วยสังเคราะห์วิตามิน D ที่ผิวหนังมนุษย์และสัตว์และมีส่วนสำคัญในการสร้างเสริมเนื้อเยื่อกระดูก ส่วนผลกระทบที่เป็นโทษของรังสีอัลตราไวโอเลต คือ ผิวหนังเกรียม กระจกตาอักเสบ (snow blindness) ต้อกระจก ผิวหนังเหี่ยวย่น และมะเร็งผิวหนัง

ผลกระทบจากรังสีอัลตราไวโอเลตสามารถแบ่งผลกระทบออกเป็น 4 ส่วนดังนี้

(1) ผลกระทบต่อดวงตา ตาของมนุษย์ไม่เพียงแต่ได้รับแสงที่ส่งมาจากดวงอาทิตย์โดยตรงเท่านั้น แต่ยังได้รับแสงจากการตกกระทบภายใต้มุมที่เฉียงมากๆอีกด้วย ดังนั้นหากตาได้รับรังสีอัลตราไวโอเลตโดยที่ไม่มีอุปกรณ์ป้องกัน ก็จะเป็นอันตรายต่อดวงตา โดยผลกระทบระยะสั้นที่เกิดขึ้นคือ กระจกตาอักเสบและผลกระทบระยะยาว เช่น ต้อเนื้อ ต้อลมหรือ ต้อกระจก

โรคเกี่ยวกับตา

ต้อ คือภาวะที่มีการเสื่อมของเยื่อบุตาขาว พบมากในประเทศที่มีอากาศร้อน และแสงแดดจัดๆ เช่น ประเทศไทย จะพบผู้ป่วยที่เป็นต้อเนื้อกันมากโดยเฉพาะในสังคมชนบทที่มีแสงแดดจัด ลมแรง จะพบว่าผู้ทำไร่ ทำสวน ทำนา เป็นต้อเนื้อกันมาก

อาการ โดยมากจะเป็นเวลานานก่อนจะพบอาการ มักเกิดบริเวณหัวตามากกว่าหางตา เห็นเป็นลักษณะแผ่นเนื้อสีชมพู หรือแดงเข้าไปในกระจกตาดำ ถ้าเป็นมากหรือนานๆ ก็อาจเข้าไปถึงกลางตาดำ ทำให้มองไม่เห็นได้ ผู้ป่วยที่เป็นต้อเนื้อจะมีอาการเคืองตา เจ็บตา หรือแสบตา เหมือนมีสิ่งแปลกปลอมอยู่ในตาโดยเฉพาะเวลาโดนแดดหรือลม บริเวณที่เป็นต้อเนื้อจะมีอาการอักเสบแดงซึ่งจะเคืองตามากขึ้น

การรักษา ในระยะแรกจักษุแพทย์จะพิจารณาให้การรักษาตามอาการไปก่อน แต่ถ้าเป็นมากแล้วก็จะต้องทำการลอกออก ซึ่งปัจจุบันวิธีการลอกต้อเนื้อมีหลายวิธี (แต่ละวิธีจะให้ผลใกล้เคียงกัน) เป็นวิธีการหนึ่งที่นำเอาต้อเนื้อออกมาจากกระจกตาดำได้ แต่พบว่าต้อเนื้อก็ยังสามารถที่จะกลับมาเป็นใหม่ได้อีกเช่นกัน แต่มีโอกาสน้อย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยและสิ่งแวดล้อมต่างๆ ด้วย เช่น หลังการลอกแล้วยังทำงานกลางแดดเป็นประจำหรือไม่ เป็นต้น

การป้องกัน การป้องกันถือเป็นการรักษาที่ดีที่สุดของต้อเนื้อ เพราะว่าถ้าป้องกันได้ดี ต้อเนื้อที่เป็นอยู่ขณะนั้นก็จะไม่ลุกลามมากขึ้น และอาจเบาบางลงได้ ผู้ป่วยจะเคืองตาน้อยลง การป้องกันที่ดีที่สุดคือ การหลบเลี่ยงจากแสงแดดจัดซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเลต หรือบริเวณที่มีลมแรงๆ ฝุ่นละอองหรือ ควันมากๆ ซึ่งจะระคายเคืองตาและทำให้ต้อเนื้ออักเสบ การสวมใส่แว่นกันแดดเวลาอยู่กลางแดดจะมีส่วนช่วยได้มาก

ต้อลม คือภาวะที่มีการเสื่อมของเยื่อบุตาขาว เช่นเดียวกันกับต้อเนื้อต่างกันตรงที่ต้อลมไม่ลุกลามเข้าไปในกระจกตาดำ

ลักษณะที่พบ ผู้ป่วยจะสังเกตเห็นว่ามีเยื่อตุ่มที่บริเวณลูกตาข้างๆ กระจกตาดำ สีขาว / เหลือง บางครั้งจะมีลักษณะแดง บางรายรู้สึกเหมือนมีสิ่งแปลกปลอมในตา

อาการ ผู้ป่วยมีอาการระคายเคือง เจ็บตาโดยเฉพาะเวลาที่มีการอักเสบเป็นตุ่มแดงๆ จะมีอาการมากขึ้น หรือผู้ป่วยอาจไม่มีอาการอะไรเลย เพียงสังเกตเห็นว่าเป็นตุ่มขาวๆ เหลืองๆ บริเวณข้างๆ กระจกตาดำเท่านั้น

การรักษา การรักษาตามอาการที่เป็น ไม่มีข้อบ่งชี้ในการผ่าตัดลอกต้อลมออก ยกเว้นกรณีผู้ป่วยมีอาการอักเสบเป็นๆ หายๆ บ่อยครั้ง ต้อลมนูนหนาจนดูน่าเกลียดหรือต้อลมเป็นอุปสรรคต่อการใช้เลนส์สัมผัส (Contact lens)

การป้องกัน พยายามหลีกเลี่ยงบริเวณที่มีลมแรงปะทะ เช่น ริมหน้าต่างรถ หรือจักรยานยนต์ หรือแม้กระทั่งเครื่องปรับอากาศรถยนต์ นอกจากนี้ ควรหลีกเลี่ยงบริเวณที่มีฝุ่นควันมากๆ เช่น บริเวณสูบบุหรี่ เป็นต้น การใส่แว่นจะช่วยป้องกันสิ่งเหล่านี้ได้บ้าง อาจจะไม่จำเป็นต้องเป็นแว่นกันแดด แต่ถ้าเป็นแว่นกันแดดได้ด้วยก็จะดียิ่งขึ้น

(2) การยับยั้งภูมิคุ้มกันร่างกาย ระบบภูมิคุ้มกัน ทำหน้าที่ป้องกันร่างกายไม่ให้เกิดโรคติดต่อ และมะเร็งบางชนิด โดยมีกลไกสำคัญ 2 ข้อ คือ Antibody สามารถแก้พิษ ทำลายจุลินทรีย์ ป้องกันการติดเชื้อ และกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาสู่ร่างกาย

Lymphocyte เป็นสื่อที่นำไปสู่การผลิต cytokines ซึ่งกระตุ้นเซลล์อื่นๆ ของระบบเม็ดเลือดขาวเพื่อทำลายเชื้อโรค ไวรัส และเซลล์มะเร็งบางชนิด

รังสีอัลตราไวโอเลตสามารถเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันบริเวณตำแหน่งที่ได้รับรังสี โดยยับยั้งภูมิคุ้มกันและมีบทบาทในการก่อให้เกิดโรคมะเร็งทั้งชนิด Melanoma และ non-melanoma โรคติดเชื้อ autoimmunity และภูมิแพ้

(3) มะเร็งผิวหนัง รังสีอัลตราไวโอเลต จะทำลาย DNA (genotoxic) เป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็งผิวหนัง ซึ่งมี 2 ประเภทคือ

(3.1) มะเร็งผิวหนังชนิด Non-melanoma (NMSC) ซึ่งแบ่งกว้างๆ ออกเป็น 2 ชนิด คือ

-Basal cell carcinoma (BCC)

-Squamous cell carcinoma (SCC)

(3.2) มะเร็งผิวหนังชนิด Melanoma หรือ cutaneous malignant melanoma (CMM) เป็นผลจาก neoplastic transformation ของ melanocytes ซึ่งเป็นเซลล์ที่ผลิตเม็ดสีในผิวหนังชั้นนอก มีด้วยกัน 4 ชนิด คือ

-Superficial spreading melanoma (SSM)

-Nodular melanoma (NM)

-Lentigo maligna melanoma (LMM)

-Acral lentiginous melanoma (ALM)

การติดเชื้อ รังสีอัลตราไวโอเลต มีผลกระทบต่อเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย โดยการเปลี่ยนแปลงกลไกการป้องกันการติดเชื้อหรือโดยการกระตุ้นการติดเชื้อโดยตรง เช่น การติดเชื้อจากปรสิต เนื่องจาก UV-B อันเนื่องมาจาก การถูกยับยั้งภูมิคุ้มกันร่างกาย

2) ผลกระทบต่อพืช

รังสีอัลตราไวโอเลตที่เพิ่มขึ้นมีผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อพืช เช่น ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง ทำลาย DNA และเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในพืช ทำให้ลักษณะทางกายภาพ และขบวนการเจริญเติบโตของพืช เปลี่ยนแปลงไป นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพและผลิตผลลดลง ถึงแม้ว่าจะมีกลไกที่ลดหรือซ่อมแซมและความสามารถในการปรับตัวต่อการเพิ่มระดับของ UV ที่จำกัดทำให้การเจริญเติบโตของพืชได้รับผลกระทบโดยตรงจากรังสี UVB

การเปลี่ยนแปลงทางอ้อมที่เกิดจาก UVB (เช่น การเปลี่ยนรูปร่างของพืช) อาจสำคัญเท่าๆกันหรือบางครั้งก็มากกว่าผลกระทบในการทำลายของ UVB การเปลี่ยนแปลงนี้มีความสำคัญต่อพืชที่มีการแข่งขันกันอย่างสมดุล สัตว์ที่กินพืช โรคพืช และวัฏจักร biogeochemical

3) ผลกระทบต่อวัสดุสิ่งก่อสร้าง

Polymer สังเคราะห์, biopolymer และวัตถุบางอย่างที่มีประโยชน์ทางพาณิชย์ถูกกระทบโดยรังสีอัลตราไวโอเลตที่มาจากแสงอาทิตย์ รังสีอัลตราไวโอเลตทำให้วัสดุต่างๆมีสีซีดลง เนื่องจากปฏิกิริยาแสงทำให้วัสดุเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีไป ไม้ และกระดาษจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดเมื่อได้รับรังสีอัลตราไวโอเลต ปัจจุบันนี้วัสดุค่อนข้างจะถูกออกแบบให้ป้องกันรังสี UV ได้โดยการเพิ่มคุณสมบัติพิเศษ ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของระดับ UV จะทำให้เกิดการเปราะพังของวัสดุเร็วขึ้น

2.8 ผลิตภัณฑ์กันแดด

2.8.1 ประเภทของผลิตภัณฑ์กันแดด

ครีมกันแดดสามารถแบ่งได้ 3 ประเภท ดังนี้ คือ

1) Chemical Sunscreen เป็นครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารเคมี ทำหน้าที่ปกป้องแสงแดด โดยการดูดซับรังสีแสงแดดเข้าไว้ในผิว ซึ่งหลังจากโดนแสงแดดสารเคมีเหล่านี้ก็เสื่อมสภาพ คือ สาเหตุต้องทาครีมกันแดดทุกๆ 2-3 ชั่วโมง การเลือกใช้ครีมกันแดดที่มีค่า SPF สูงๆ ซึ่งมีส่วนผสมของสารเคมีปริมาณมาก อาจเกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังโดยเฉพาะคนที่มีผิวแพ้ง่าย

2) Physical Sunscreen เป็นครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารที่สามารถสะท้อนรังสี UVA และ UVB ออกไปจากผิวหนัง ซึ่งสารในกลุ่มนี้จะมีผลระคายเคืองต่อผิวหนังน้อยกว่าสารในกลุ่มแรก แต่มีข้อเสีย คือ ครีมกันแดดประเภทนี้ไม่สามารถให้ SPF ที่สูงๆ ได้ และเมื่อทาบนผิวหนังทำให้หน้าขาว เนื่องจากสารจะเคลือบบนผิวหนังชั้นบนเพื่อรอแสงกระทบ จึงมีการดูดซึมสู่ผิวน้อย

3) แบบผสม Chemical-Physical Sunscreen เป็นข้อดีมากกว่าข้อเสียในแต่ละส่วน คือ ลดการระคายเคืองต่อผิวหนังจากสารประเภทสารเคมี และลดความขาวเมื่อทาครีม และเสริมประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดร่วมกัน

2.8.2 ส่วนผสมในครีมกันแดด สามารถแบ่งตามสารออกฤทธิ์ได้ดังนี้

1) สารออกฤทธิ์กลุ่มสารเคมีที่ป้องกัน UVA ได้แก่ Oxybenzone, Sulisobenzone, Dioxybenzone, Avobenzone, Merxoryl sx

2) สารออกฤทธิ์กลุ่มสารเคมีที่ป้องกัน UVB ได้แก่ Aminobenzoic acid (PABA), Homosalate, Cinoxate, Octyl methoxycinnamate, Octyl salicylate, Padimate O, Phenylbenzimidazole sulfonic acid, Trolamine salicylate, Methyl anthralinate

3) สารออกฤทธิ์กลุ่ม Physical เป็นสารกันแดดที่สะท้อนแสงที่ป้องกันทั้ง UVA และ UVB ได้แก่ Titanium dioxide, Zinc Oxide

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1) เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง (electronic balance, 4 digit), DENVER den - 1 SI – 234)

2) เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (รุ่น ECIL CE 4002 4000 SERIES)

3) ออโต้ปิเปตต์ ขนาด 100-1000 µl (Auto Pipette)

3.1.2 อุปกรณ์ในการวิจัย

1) ขวดขนาดเล็ก (Vials)

2) หลอดหยด (Dropper)

3) ขวดน้ำกลั่น (Distilled bottle)

4) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)

5) ปิเปตต์ (Pipettes)

6) บีกเกอร์ (Beakers)

7) แท่งแก้วคน (stirring rod)

8) กระปุกครีม (Cream bottle)

9) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flasks)

10) หลอดทดลอง (Test tube)

11) ช้อนตักสาร (Spatula)

12) กรวยกรอง (Cone filter)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1 ตัวทำละลาย

1) เอทานอล (Ethanol)

2) เมทานอล (Methanol)

3.2.2. สารเคมี

1) Carbomer 250

2) Methyl paraben

3) Triethanolamine

4) Propelene glycol

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

แก่นสีเสียด เก็บจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา เก็บเมื่อเดือนสิงหาคม 2553 อายุประมาณ 10 - 15 ปี นำมาปอกเปลือกออกและสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เก็บรักษาไว้ในที่มีอากาศเย็นและแห้ง มีการระบายอากาศดี

3.3.2 การสกัดสาร

1) ชั่งแก่นสีเสียด 100 กรัม

2) ผสมกับตัวทำละลาย (เอทานอล 100 % หรือเอทานอล 70 %) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

3) อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด ที่ 10:1 v/w และ 15:1 v/w

4) สกัดเป็นเวลา 8 หรือ 12 ชั่วโมง

5) จำนวนครั้งในการสกัด 2 หรือ 4 ครั้ง (โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่มีปริมาณเท่ากัน สำหรับการสกัดที่มีอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียดที่เท่ากันและสกัดอย่างต่อเนื่อง)

6) การสกัดมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดทั้งหมด 5 ปัจจัย ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เอทานอล อุณหภูมิ อัตราส่วนของแก่นสีเสียดต่อตัวทำละลาย เวลา และจำนวนครั้งในการสกัดแต่ละปัจจัยศึกษาเป็น 2 ระดับ (ตารางที่ 3.1) จึงมีวิธีสกัดทั้งหมด 32 วิธี ตามตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงระดับและปัจจัยในการสกัดแก่นสีเสียด

ปัจจัย ในการสกัด	เปอร์เซ็นต์ เอทานอล (%)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วน ของตัวทำละลาย ต่อแก่นสีเสียด (v/w)	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวน ครั้ง ในการสกัด
ระดับสูง	100	70	15	12	4
ระดับต่ำ	70	60	10	8	2

ตารางที่ 3.2 ตารางแสดงวิธีการสกัดแก่นสีเสียดจากระดับและปัจจัยในการสกัด (2 ระดับ 5 ปัจจัย)

วิธีสกัด	**เปอร์เซ็นต์เอทานอล (%)**	**อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)**	**อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด(v/w)**	**เวลา (ชั่วโมง)**	**จำนวนครั้งในการสกัด**
1	100	70	10	12	2
2	100	60	15	8	4
3	100	70	10	8	4
4	100	60	15	12	2
5	100	60	10	8	2
6	100	60	10	12	4
7	100	60	15	12	4
8	100	60	10	12	2
9	100	70	15	8	4
10	100	60	15	8	2
11	100	70	15	12	4
12	100	60	10	8	4
13	100	70	15	12	2
14	70	60	10	8	4
15	70	60	15	8	4
16	100	70	10	12	4
17	70	70	15	8	4
18	70	60	10	8	2
19	70	70	10	12	4

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

วิธีสกัด	เปอร์เซ็นต์เอทานอล (%)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด(v/w)	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนครั้งในการสกัด
20	70	70	15	12	4
21	70	70	15	8	2
22	70	70	15	12	2
23	100	70	15	8	2
24	70	60	10	12	2
25	70	60	15	12	2
26	70	60	15	12	4
27	70	70	10	8	4
28	100	70	10	8	2
29	70	60	15	8	2
30	70	60	10	12	4
31	70	70	10	8	2
32	70	70	10	12	2

3.3.3 การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

1) เตรียมสารละลายสารสกัดสีเสียด ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลิลิตร ด้วยเอทานอล 25 มิลลิลิตร

2) เตรียมสารละลาย aluminium trichloride solution ($AlCl_3 .6H_2O$) ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเอทานอล 25 มิลลิลิตร

3) ปิเปตสารมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร จาก (1) + (2) ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 25 มิลลิลิตร

4) หลังจากผสมสารเข้าด้วยกันจากข้อ (3) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

5) ปิเปต 1 มิลลิลิตร จาก (1) แล้วเติมกรดแอซีติก 1 หยด ใช้เป็นสารละลายในการเปรียบเทียบผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร

6) เตรียมสารละลาย rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$) ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายด้วย เอทานอล 250 มิลลิลิตร (ใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

7) วิเคราะห์ผลการทดลองและรายงานปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัด 32 วิธี เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน rutin (คำนวณตามสมการที่ 1)

$$X = (A \times m_0 \times 100 \times 10) / A_0 \times m \times 100) \quad (1)$$

X คือ เปอร์เซ็นต์ของฟลาโวนอยด์ในสารสกัดสีเสียด

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ของสารสกัดสีเสียดกับอะลูมิเนียมคลอไรด์

A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ของสารมาตรฐาน rutin

m คือ น้ำหนักของสารสกัดสีเสียด

m_0 คือ น้ำหนักของสารมาตรฐาน rutin

3.3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1) การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมสารละลายจากสารสกัดสีเสียด ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย absolute ethanol 50 มิลลิลิตร

2) การเตรียมสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH)

เตรียมสารละลาย 2,2-Diphenyl-l-picryhydrazyl (DPPH) ที่ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ ด้วย absolute ethanol 50 มิลลิลิตร

3) วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

(1) ปิเปต 1.5 มิลลิลิตร ของสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) และ ปิเปต 1.5 มิลลิลิตร ของสารสกัดจากสีเสียด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ช่วงความเข้มข้น 2-12ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 5 ความเข้มข้น) ลงในหลอดทดลอง โดยแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสีเสียดทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

(2) เขย่าให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 15 นาที

(3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

(4) วิเคราะห์ผลการทดลองในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นที่ต้านการออกซิเดชัน 50 % (EC_{50})

3.3.5 การหาค่า CF จากผลิตภัณฑ์กันแดด (Siliva. 2005)

1) เตรียมสารละลายผลิตภัณฑ์กันแดดที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเมทานอล10 มิลลิลิตร

2) เจือจางสารละลายผลิตภัณฑ์กันแดดที่ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเมทานอล 25 มิลลิลิตร

3) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

4) นำค่าวัดการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณค่า CF เฉลี่ยจากผลิตภัณฑ์กันแดด 10 ชนิดที่ทราบค่า SPF โดยใช้สูตรในสมการที่ 2

$$\mathbf{SPF = CF \times \sum_{320}^{290} EE\ (\lambda) \times I\ (\lambda \times abs\ )} \qquad \mathbf{(2)}$$

SPF	คือ ค่าการป้องกันแสงแดด
CF	คือ Correction factor
EE × I	คือ ค่าคงที่ของความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร
λ	คือ ความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร
Abs	คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร

3.3.6 การหาค่า SPF จากสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียด (Siliva. 2005)

1) เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียดที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร

2) ทำการเจือจางสารละลายสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียดที่ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเมทานอล 25 มิลลิลิตร

3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

4) นำค่าวัดการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณค่า SPF โดยใช้สูตรตามสมการที่ 2 และแทนค่า CF ด้วยค่า CF เฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ (ตอนที่ 3.3.5)

3.4 การทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดดของสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียดจากการสกัด 32 วิธี และผลิตภัณฑ์กันแดด ด้วยโปรแกรม SPSS version 16.0

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ (Correlation and factorial model) ในการสกัดต่อปริมาณฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดดด้วยวิธีทางสถิติ คือ two - factorial design และทดสอบ Multiway factorial ANOVA ด้วยโปรแกรม Design - Expert Version 6.0.5

บทที่ 4
ผลการทดลองและการอภิปรายผล

จากการศึกษาอิทธิพลของกระบวนการสกัดสารฟลาโวนอยด์ต่อการต้านออกซิเดชันและความสามารถในการป้องกันแสงแดด (ค่าการป้องกันแสงแดด, SPF) ของสารสกัดจากแก่นสีเสียดและนำมาวิเคราะห์ตามวิธีการทดลองดังกล่าวด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ได้ผลการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

4.1 ผลการทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ จากวิธีการทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (ตามวิธีการวิเคราะห์ตอนที่ 3.3.3) ผลการทดลองแสดงการรายงานค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ของสารสกัดสีเสียดกับกรดแอซีติก สารสกัดสีเสียดกับอะลูมิเนียมคลอไรด์ สารละลายมาตรฐานรูตินและปริมาณสารฟลาโวนอยด์จากสารสกัดสีเสียด (ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

วิธีสกัด	ปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมรูติน)
1	14.64 ± 0.52
2	7.51 ± 0.21
3	25.50 ± 0.17
4	19.65 ± 0.49
5	20.20 ± 0.23
6	8.97 ± 0.43
7	15.45 ± 0.50
8	16.78 ± 0.70
9	16.95 ± 0.10
10	8.60 ± 0.37
11	26.16 ± 0.12

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วิธีสกัด	ปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมรูติน)
12	6.94 ± 0.10
13	17.00 ± 0.19
14	7.33 ± 0.37
15	15.87 ± 0.33
16	11.69 ± 0.34
17	12.08 ± 0.32
18	10.35 ± 0.09
19	18.64 ± 0.32
20	7.31 ± 0.23
21	13.26 ± 0.12
22	7.11 ± 0.09
23	13.99 ± 0.19
24	8.97 ± 0.09
25	20.63 ± 0.10
26	7.60 ± 0.16
27	14.78 ± 0.46
28	13.60 ± 0.94
29	17.19 ± 0.28
30	7.77 ± 0.11
31	15.02 ± 0.19
32	9.49 ± 0.16

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดลองนำสารละลาย 1.5 มิลลิลิตร ของสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) และสารละลาย 1.5 มิลลิลิตร ของสารสกัดจากสีเสียด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ช่วงความเข้มข้น 2-12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 5 ความเข้มข้น) โดยแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสีเสียดทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (ตามวิธีการทดสอบตอนที่ 3.3.4) ผลการทดลองแสดงการรายงานค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเข้มข้นที่ต้านการออกซิเดชัน 50 % (EC_{50})

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าความเข้มข้นที่ต้านการออกซิเดชัน 50 % (EC_{50}) (ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

วิธีสกัด	**ค่าเฉลี่ย EC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)**
1	10.31 ± 0.47
2	7.20 ± 2.99
3	7.71 ± 0.21
4	13.17 ± 0.44
5	8.94 ± 0.15
6	13.41 ± 0.55
7	8.21 ± 0.18
8	13.23 ± 1.91
9	10.71 ± 0.56
10	8.64 ± 0.31
11	10.33 ± 0.09
12	10.14 ± 0.04
13	8.68 ± 0.34
14	11.82 ± 0.27
15	12.71 ± 0.72
16	8.20 ± 0.19
17	11.37 ± 0.26

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

วิธีสกัด	**ค่าเฉลี่ย EC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)**
18	11.71 ± 0.55
19	9.91 ± 0.24
20	9.09 ± 0.16
21	12.92 ± 0.44
22	9.07 ± 0.23
23	7.89 ± 0.28
24	8.81 ± 0.33
25	7.97 ± 0.29
26	8.60 ± 0.26
27	7.73 ± 0.28
28	13.41 ± 0.35
29	10.04 ± 0.44
30	8.01 ± 0.23
31	12.84 ± 0.44
32	8.41 ± 0.18
รูติน	4.33 ± 0.23
คาทีชินส์	2.69 ± 0.13

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบของแก่นสีเสียด มีค่า effective concentration (EC_{50}) สูงสุด และ ต่ำสุด เท่ากับ 13.41 และ 7.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกับ EC_{50} ของสารมาตรฐานรูติน และ คาทีชินส์ มีค่า EC_{50} เท่ากับ 4.33 และ 2.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.3 ผลการทดสอบค่าการป้องกันแสงแดด

จากการทดลองเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียดที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายผลิตภัณฑ์กันแดดที่ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (ตามวิธีการทดสอบตอนที่ 3.3.6) ผลการทดลองแสดงการรายงานค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการป้องกันแสงแดดได้ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าการป้องกันแสงแดดเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยของการสกัด (ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

วิธีสกัด	ค่าการป้องกันแสงแดด
1	5.07 ± 0.00
2	3.97 ± 0.02
3	6.41 ± 0.02
4	5.31 ± 0.01
5	4.16 ± 0.01
6	5.58 ± 0.02
7	5.71 ± 0.00
8	6.56 ± 0.01
9	5.10 ± 0.02
10	4.97 ± 0.01
11	6.83 ± 0.01
12	6.51 ± 0.00
13	7.23 ± 0.02
14	6.93 ± 0.00
15	8.42 ± 0.02
16	8.01 ± 0.01
17	6.23 ± 0.01
18	8.05 ± 0.01
19	6.78 ± 0.05
20	8.57 ± 0.02

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

วิธีสกัด	ค่าการป้องกันแสงแดด
21	6.93 ± 0.01
22	7.28 ± 0.01
23	6.49 ± 0.01
24	8.07 ± 0.01
25	7.98 ± 0.02
26	9.33 ± 0.00
27	14.02 ± 0.02
28	11.40 ± 0.02
29	10.05 ± 0.01
30	11.33 ± 0.01
31	9.23 ± 0.02
32	11.20 ± 0.01

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบของแก่นสีเสียดมีค่าการป้องกันแสงแดดสูงสุด และ ต่ำสุด เท่ากับ 14.02 และ 3.97 ตามลำดับ

4.4 ผลการทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ

จากการทดลองวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Pearson Correlation) ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และ ค่าการป้องกันแสงแดดจากการสกัด 32 วิธี ด้วยโปรแกรม SPSS version 16.0 และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดดด้วยการออกแบบการทดลองแบบ two-factorial design และการทดสอบทางสถิติแบบ Multiway factorial ANOVA ด้วยโปรแกรม Design - Expert Version 6.0.5 ผลการทดสอบแสดงได้ดังต่อไปนี้

4.4.1 ผลการวิเคราะห์ความเกี่ยวข้องสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดด

จากผลการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson Correlation) ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อทดสอบที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Pearson Correlation มีค่าเท่ากับ - 0.055) แต่ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์กับค่าการป้องกันแสงแดด (Pearson Correlation มีค่าเท่ากับ 0.815)

4.4.2 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความเกี่ยวข้องของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

จากผลการวิเคราะห์ได้แสดงสมการความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัด คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอล (A) อุณหภูมิ (B) อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด (C) เวลา (D) และจำนวนครั้งในการสกัด (E) ต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ **(สมการที่ 3)** และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) **(สมการที่ 4)**

สมการที่ 2 มีค่าสัมพันธ์ในการทำนายปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 0.9170 โดยมีปัจจัยที่สำคัญและส่งผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ A B E และ ABDE

สมการที่ 3 มีค่าสัมพันธ์ในการทำนายฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) เท่ากับ 0.9584 โดยมีปัจจัยที่สำคัญและส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ AC AD ABD BCE BDE CDE และ ABCE

ดังนั้นจากสมการที่ 2 มีค่าสัมพันธ์ในการทำนายปริมาณสารฟลาโวนอยด์และสมการที่ 3 มีค่าสัมพันธ์ในการทำนายฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50})

สมการที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ = + 13.66 - 3.6 A + 1.33 B - 0.78 C - 0.12 D - 1.30 E + 0.49 AB + 0.56 AC - 0.73 AD + 0.34 AE - 0.81 BC - 0.68 BD - 0.97 BE - 0.092 CD + 1.02 DE + 0.95 ABC + 0.16 ABD - 0.037 ABE + 0.25 ACD + 0.43 ADE + 0.50 B CD + 0.28 BDE - 0.43 ABCD + 1.36 ABDE .....**(3)**

สมการที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) = + 10.04 - 0.026 A - 0.13 B - 0.25 C - 0.32 D - 0.34 E - 0.23 AB - 0.41 AC + 1.01 AD - 0.18 AE + 0.35 BC - 0.34 BD - 0.19 BE - 0.073 CD + 0.33 CE + 0.097 DE + 0.059 ABC - 0.62 ABD + 0.29 ABE - 0.049 ACE - 0.23 ADE + 0.020 BCD + 0.57 BCE + 0.57 BDE - 0.42 CDE + 0.69 ABCE .....**(4)**

4.4.3 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อการป้องกันแสงแดด

จากผลการวิเคราะห์ได้แสดงสมการความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัด คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอล (A) อุณหภูมิ (B) อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด (C) เวลา (D) และจำนวนครั้งในการสกัด (E) การป้องกันแสงแดด **(สมการที่ 5)**

สมการที่ 5 มีค่าสัมพันธ์ในการทำนายค่าการป้องกันแสงแดด เท่ากับ 0.8405 โดยมีปัจจัยที่สำคัญและส่งผลต่อค่าการป้องกันแสงแดด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ A B C BC BCD ABDE และ ABCDE

ดังนั้นสมการทั้งสองสมการนี้สามารถใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ของค่าความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อปริมาณฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดดได้

สมการที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อค่าการป้องกันแสงแดด

ค่าการป้องกันแสงแดด = +7.49 - 1.28 A + 0.43 B - 0.59 C + 0.061 D + 0.43AB + 0.086AC - 0.50 BC - 0.36 BD + 0.32 CD + 0.63 BCD - 0.013 ABCE + 0.79 ABDE - 0.76A BCDE.....**(5)**

หมายเหตุ

A คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอล (%)

B คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส (v/w)

C คือ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด

D คือ เวลา (ชั่วโมง)

E คือ จำนวนครั้งในการสกัด

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์

จากผลการทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของแก่นสีเสียด โดยการสกัดหยาบ 32 วิธีทดลองซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าสารสกัดจากแก่นสีเสียดมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด และ ต่ำสุด เท่ากับ 26.16 และ 6.94 มิลลิกรัมต่อกรัมรูติน ตามลำดับ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกันสามารถได้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันถึงประมาณ 3.5 เท่า

5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วย 70 % เอทานอล และ 100 % เอทานอลของแก่นสีเสียด ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าสารสกัดสีเสียดสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ($DPPH^{\bullet}$) โดยมีค่า EC_{50} สูงสุด และ ต่ำสุด เท่ากับ 13.41 และ 7.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนรูตินและ คาทีชินส์ มีค่า EC_{50} เท่ากับ 4.33 และ 2.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC_{50} ที่ต่ำสุดของสารสกัด (7.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าสารสกัดจากแก่นสีเสียดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าประมาณ 1.5 เท่า ของ EC_{50} จากสารมาตรฐานรูตินและน้อยกว่าประมาณ 5 เท่า ของสารมาตรฐานคาทีชินส์ อย่างไรก็ตามการสกัดสารที่ใช้ตัวทำละลาย (เอทานอล) นั้นเป็นวิธีที่ง่าย และสารสกัดจากแก่นสีเสียดที่ได้นั้นสามารถนำไปใช้ได้จริง โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ($DPPH^{\bullet}$) ด้อยกว่าสารมาตรฐานเพียงเล็กน้อย (1.5 - 5 เท่า) ตามที่ได้กล่าวมาแล้ว

5.3 การทดสอบค่าการป้องกันแสงแดด

จากผลการหาค่าป้องกันแสงแดดของสารสกัดหยาบของแก่นสีเสียด ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าสารสกัดสีเสียดมีคุณสมบัติในการป้องกันแสงแดด โดยมีค่า การป้องกันแสงแดดสูงสุด และต่ำสุด เท่ากับ 14.02 และ 3.97 ตามลำดับ (ค่า SPF แตกต่างกันถึงประมาณ 3.5 เท่า ภายใต้การสกัดที่แตกต่างกัน) นอกจากนี้ ค่า SPF ที่ได้จากสารสกัดสีเสียดยังมีค่าสูงกว่าค่า SPF จากสารสกัดต้น *P.umbellate* ซึ่งรายงานโดยSilva และคณะ ในปี ค.ศ. 2005 โดย Silva และคณะรายงานค่า SPF ของเจลจากสารสกัด *P.umbellate* มีค่าเท่ากับ 3.35 ± 0.02 และค่า SPF ของ 4-nerolidylcathecol (4-NC) (สารที่ป้องกันแสงแดดได้และแยกได้จากสารสกัด *P.umbellate*) มีค่าเท่ากับ 4.00 ± 0.59

5.4 การทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ

5.4.1 ผลการวิเคราะห์ความเกี่ยวข้องสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

จากผลการทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ ความเกี่ยวข้องสัมพันธ์ (Pearson Correlation) ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าเมื่อทดสอบที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบเอทานอลจากแก่นสีเสียดและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการตรวจสอบทางสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ตามวิธีการทดลองในงานวิจัยนี้ ไม่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Pearson Correlation มีค่าเท่ากับ - 0.055) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์ สารมาตรฐาน (รูตินและ คาทีชินส์) พบว่าสารฟลาโวนอยด์ทั้งสองชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดจากแก่นสีเสียด 1.5 - 5 เท่า ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากสารสกัดหยาบเอทานอลจากแก่นสีเสียด มีสารหลายชนิดรวมกันและสารบางชนิดอาจมีอิทธิพลต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์ ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากแก่นสีเสียดและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่สอดคล้องสัมพันธ์กัน และแตกต่างจากการทดสอบด้วยสารมาตรฐานฟลาโวนอยด์

5.4.2 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดด

จากผลการทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติความสัมพันธ์ (Pearson Correlation) ระหว่างปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดด พบว่าเมื่อทดสอบที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ปริมาณสาร ฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบของแก่นสีเสียดและค่าการป้องกันแสงแดดด้วยการวัดค่าจากเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ตามวิธีการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ มีความสัมพันธ์กับค่าการป้องกันแสงแดด (Pearson Correlation มีค่าเท่ากับ 0.815) แสดงว่าปริมาณฟลาโวนอยด์มีอิทธิพลต่อค่าในการป้องกันแสงแดด คือ เมื่อมีปริมาณฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น สารสกัดหยาบของแก่นสีเสียดมีค่าการป้องกันแสงแดดเพิ่มขึ้นด้วย

5.4.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความเกี่ยวข้องของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดด

จากผลการทดสอบและวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ Multiway factorial ANOVA สามารถสรุปความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ค่าการต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดดได้ดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 แสดงความสัมพันธ์และความเกี่ยวข้องของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ค่าการต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดด

	เปอร์เซ็นต์เอทานอล (%)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อแก่นสีเสียด(v/w)	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนครั้งในการสกัด
ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงขึ้น	↑	↓	↑	↑	↓
ค่าการต้านอนุมูลอิสระลดลง	↑	↓	↑	↓	↑
ค่าการป้องกันแสงแดดสูงขึ้น	↑	↓	↑	↓	↑

ความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดแก่นสีเสียดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ค่าการต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดดของสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียดสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 5.1 ผลที่ได้แสดงความสอดคล้องกันระหว่างค่าการต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดดและยังสอดคล้องกับกับรายงานของ Turkmen และคณะ ซึ่งรายงานในปี ค.ศ. 2006 ว่าตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันเป็นปัจจัยสำคัญต่อปริมาณสารกลุ่ม polyphenol ในขณะที่สารประกอบฟลาโวนอยด์สมารถสลายตัวได้หากมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Prommuak, De-Eknamkul & Shotipruk, 2008). อย่างไรก็ตามสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมสามารถทำนายได้ด้วยสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ทั้งนี้หากวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ การต้านอนุมูลอิสระและค่าการป้องกันแสงแดด คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอล และอุณหภูมิในการสกัด โดยทั้ง 2 ปัจจัยมีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ เปอร์เซ็นต์เอทานอลเพิ่มขึ้นปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดดสูงขึ้นอีกทั้งทำให้ EC_{50} ลดลง หรือใช้ความเข้มข้นในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลง แต่เมื่อลดอุณหภูมิลงปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดดจะเพิ่มขึ้นอีกทั้งทำให้ EC_{50} ลดลง หรือใช้ความเข้มข้นในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลง

5.5 ข้อเสนอแนะ

5.5.1 ควรศึกษาชนิดและปริมาณของสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากแก่นสีเสียดด้วยเทคนิคอื่นเพิ่มเติม เช่น High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

5.5.2 ควรศึกษาจากสมการที่แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์และการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสกัดสารจากแก่นสีเสียดให้มีปริมาณมากขึ้นเพื่อให้สามารถนำไปแยกสารที่องค์ประกอบต่าง ๆ ได้ ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากแก่นสีเสียดอย่างครบถ้วนมากขึ้น

5.5.3 ควรศึกษาจากสมการที่แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์และค่าการป้องกันแสงแดด เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในการหาความสัมพันธ์ขององค์ประกอบทางเคมีต่อการป้องกันแสงแดดต่อไป

5.5.4 ควรศึกษาการวัดด้วยเครื่องสำหรับวัดค่าการป้องกันแสงแดดโดยเฉพาะและนำมาเปรียบเทียบกับการวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เพื่อเป็นการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์ในงานวิจัย

ผลผลิต

กำลังดำเนินการเขียน manuscript เพื่อตีพิมพ์ในวารสาร

รายงานสรุปการเงิน
สัญญาเลขที่ MRG5380018

โครงการ: การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์จากแก่นสีเสียดกับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันแสงแดด

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน นางสาวอรพรรณ อนุรักษ์วรกุล

รายจ่าย

หมวด (ตามสัญญา)	รายจ่ายสะสมจากรายงานครั้งก่อน	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบันงวดปัจจุบัน	รวมรายจ่ายสะสมจนถึง	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	คงเหลือ (หรือเกิน)
ค่าตอบแทน	120,000	60,000	180,000	240,000	60,000
ค่าจ้าง	-	-	-	-	-
ค่าวัสดุ	79,259.60	115,410	194,669..60	195,000	
330.40					
ค่าใช้สอย	24,190	20,615	44,805	45,000	195
ค่าครุภัณฑ์	-	-	-	-	-
รวม	223,449.60	196,025	419,474.60	480,000	60,525.4

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 240,000 บาท เมื่อ 9 ก.ย.2554

งวดที่ 2 100,000 บาท เมื่อ 30 มิ.ย. 2555

(**หมายเหตุ**: เงินงบประมาณงวดที่ 2 ยังไม่ได้รับจากมหาวิทยาลัยต้นสังกัด 80,000 บาท ซึ่งต้นสังกัดได้เตรียมเงินงบประมาณไว้ให้หลังจากการส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หรืออย่างน้อยสามบทแรกของรายงานตามระเบียบของมหาวิทยาลัย ซึ่งผู้วิจัยจะขอเบิกจ่ายย้อนหลังต่อไป)

ดอกเบี้ย ครั้งที่ 1 344.40 บาท เมื่อ 31 ธ.ค.2554

ดอกเบี้ย ครั้งที่ 2 293.85 บาท เมื่อ 30 มิ.ย. 2555

รวม 340,638.25 **บาท** ∂

ค่าใช้จ่าย

งวดที่ 1 (รอบ 12 เดือน)	เป็นเงิน	223,449.60	บาท
งวดที่ 2 (รอบ 18 เดือน)	เป็นเงิน	196,025	บาท
ฯลฯ			
	รวม	419,474.60	**บาท** ❷
จำนวนเงินคงเหลือ ∂ - ❷		-78,836.35	**บาท**

(หมายเหตุ: ผู้วิจัยจะขอเบิกจ่ายจากต้นสังกัดซึ่งต้นสังกัดได้เตรียมเงินงบประมาณไว้ให้ 80,000 บาท หลังจากการส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หรืออย่างน้อยสามบทแรกของรายงาน และค่าใช้จ่ายในงวดที่ 2 รวมทั้งหมดเท่ากับ 196,025 บาท แต่ผู้วิจัยเบิกมาเพียง 115,600 บาท เพราะยังไม่ได้เงินสบทบจากต้นสังกัดตามที่รายงาน อย่างไรก็ตามผู้วิจัยจะขอเบิกจ่ายย้อนหลังอีกครั้งเมื่อได้รับเงินสมทบครบถ้วน)

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

ลงนามเจ้าหน้าที่การเงินโครงการ

บรรณานุกรม

งามผ่อง คงคาทิพย์. เอกสารประกอบการบรรยาย เรื่อง **การสกัดแยกสารและน้ำมันหอมระเหยจากพืชขั้นพื้นฐาน**.หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพร ฯ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและ อุตสาหกรรมเกษตร. : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเทือง สินศรีชัย . **พรรณพืชหอมและน้ำมันหอมระเหย**. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.: กรุงเทพมหานคร

ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. **เทคนิคทางเคมี**. สำนักพิมพ์ประกายพรึก. 2538

วิมล ศรีศุข. 2552. **สมุนไพรไทย**. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล.

เสรี ไตรรัตน์. **ปฏิบัติการเคมีทั่วไป**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2520

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ และคณะ. 2549. **การสกัดแยกสารและน้ำมันหอมระเหยจากพืชขั้นพื้นฐาน.** สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง และจันทนา บุณยะรัตน์. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** สำนักพิมพ์พี.เอส.พริ้น, กรุงเทพฯ.

Adriana B. *et.al*. 1999. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. ***Phytochemistry***. **52** : 1479-1482.

Akihisa M. *et.al*. 1987. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against PROTEOUS VULGARIS and staphylococcus aureus. ***Phytochemistry*. 26** : 2231-2234.

Anitha J. *et.al*. 2011. Pharmacognostical studies on Acacia catechu willd and identification of antioxidant principles. ***International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences***. **3(2)** : 108-111**.**

Azad AK. *et.al*. 2001. Isolation of (+) – catechin and new polyphenolic compound in Bengal catechu. ***J wood sci.*** **47** : 406-409.

Basile A. *et.al*. 2000. Antibacterial and allelopathic activity of extract from Castanea Sativa leaves. ***Fitoterapia***. **71** : 110-116.

Choquenet B *et.al*. 2008. Quercetin and rutin as potential sunscreen agents: Determination of efficacy by an in vitro method. ***J. Nat. Prod***. **71**: 1117-1118.

Ewald C. *et.al*. 1999. Effect of processing on major flavonoids in processed onions green beans and peas. ***Food chemistry***. **64** : 231-235.

Khazaeli P, Mehrabani M. 2008. Screening of sun protective activity of the ethyl acetate extracts of some medicinal plants. ***Iranian Journal of Pharmaceutical Research***. **7**: 5-9.

Lee XZ. *et. al*. 2008. Alleviation of UV-B stress in Arabidopsis using tea catechins. ***Afr J Biotechnol***. **7(22)**: 4111-4115.

Miean KH, Mohamed S. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin and apigenin) content of edible tropical plants. **Agric.** ***Food chem.*** **49** : 3106-3112.

Prommuak, C., De-Eknamkul, W., Shotipruk, A. 2008. Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extracts. ***Separation and Purification Technology***. **62**: 444-448.

Shen D. *et. al*. 2006. Determination of the Predominant Catechins in Acacia catechu by Liquid Chromatography/Electrospray Ionization–Mass Spectrometry ***J. Agric. Food Chem***. **54** : 3219-3224.

Siliva V.V.da. *et. al*. 2005. Chemical stability and SPF determination of extract gel And photostability of 4-nerolidylcathecol. ***Internationnal Journal of Pharmaceutics*****. 303**: 125-131.

Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. 2006. Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. ***Food Chem***. **99**: 838-841.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.
การคำนวณหาค่า Correction factor (CF)
และการคำนวณค่าการป้องกันแสงแดด (SPF)

ภาคผนวก ก – 1 ตัวอย่างการคำนวณหาค่า correction factor (CF) ของผลิตภัณฑ์กันแดด 2 ผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์ที่ 1 Biore SPF 50

จากสูตร

$$\mathbf{SPF = CF \times \sum_{320}^{290} EE\ (\lambda) \times I\ (\lambda \times abs)}$$

50 = CF × [(0.0150 × 0.946) + (0.0817 × 1.010) + (0.2874 × 1.062) + (0.3278 × 1.096) + (0.1864 × 1.126) + (0.0839 × 1.066) + (0.0180 × 0.914)]

50 = CF × [0.0142 + 0.0825 + 0.3052 + 0.3593 + 0.2099 + 0.0894 + 0.0165]

50 = CF × 1.0770

CF = 50 / 1.0770

CF = 46.430

ผลิตภัณฑ์ที่ 2 Scacare SPF 30 แบบปกป้อง 10 ประการ

จากสูตร

$$\mathbf{SPF = CF \times \sum_{320}^{290} EE\ (\lambda) \times I\ (\lambda \times abs)}$$

30 = CF × [(0.0150 × 0.842) + (0.0817 × 0.888) + (0.2874 × 0.921) + (0.3278 × 0.941) + (0.1864 × 0.981) + (0.0839 × 0.953) + (0.0180 × 0.845)]

$$30 = CF \times [0.0126 + 0.0725 + 0.2647 + 0.3085 + 0.1829 + 0.0800 + 0.0152]$$

$$30 = CF \times 0.9364$$

$$CF = 30 / 0.9364$$

$$CF = 32.08$$

ค่า CF ทั้งค่ามาหาค่าเฉลี่ย = 46.43 + 32.08 /2

จะได้ ค่า CF = 39.060

* ค่า CF ที่ได้เป็นเพียงตัวอย่างในการคำนวณ

ภาคผนวก ก – 2 แสดงตารางสรุปค่า CF จากการคำนวณหาค่า correction factor (CF) ของผลิตภัณฑ์กันแดด 10 ผลิตภัณฑ์

ชนิดของ chemical sunscreen	ค่า CF
Biore SPF 50	46.420
Scacare SPF 30 ปกป้อง 10 ประการ	32.040
Scacare SPF 30 ปกป้อง 8 ประการ	43.230
C'Care SPF 40	31.060
Vitara SPF 40	27.390
Vaseline SPF 30 for body	37.720
Vaseline SPF 30 for face	38.510
Cancer SPF 30	54.020
OLAY SPF 24	50.650
KA SPF 50	34.930
เฉลี่ย	39.60

ภาคผนวก ก – 3 แสดงตารางสรุปค่า SPF จากการคำนวณด้วยค่า correction factor (CF) เฉลี่ยของผลิตภัณฑ์กันแดด 10 ผลิตภัณฑ์

ชนิดของ chemical sunscreen	ค่า SPF (CFแต่ละผลิตภัณฑ์)
Biore SPF 50	50.00
Scacare SPF 30 ปกป้อง 10 ประการ	30.00
Scacare SPF 30 ปกป้อง 8 ประการ	28.69
C'Care SPF 40	39.99
Vitara SPF 40	40.00
Vaseline SPF 30 for body	30.00
Vaseline SPF 30 for face	30.00
Cancer SPF 30	30.00
OLAY SPF 24	24.00
KA SPF 50	50.00
เฉลี่ย	35.268

ภาคผนวก ก – 4 แสดงตารางสรุปค่าการป้องกันแสงแดดของสารสกัดหยาบจากแก่นสีเสียด 32 วิธี

วิธีสกัด	ค่าการป้องกันแสงแดด
1	5.07± 0.00
2	3.97 ± 0.02
3	6.41 ± 0.02
4	5.31 ± 0.01
5	4.16 ± 0.01
6	5.58 ± 0.02
7	5.71 ± 0.00
8	6.56 ± 0.01
9	5.10 ± 0.02
10	4.97 ± 0.01
11	6.83 ± 0.01
12	6.51 ± 0.00
13	7.23 ± 0.02
14	6.93 ± 0.00
15	8.42 ± 0.02
16	8.01 ± 0.01
17	6.23 ± 0.01
18	8.05 ± 0.01
19	6.78 ± 0.05
20	8.57 ± 0.02

ภาคผนวก ก – 5 แสดงค่าการป้องกันแสงแดดเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยของการสกัด (ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) (ต่อ)

วิธีสกัด	ค่าการป้องกันแสงแดด
21	6.93 ± 0.01
22	7.28 ± 0.01
23	6.49 ± 0.01
24	8.07 ± 0.01
25	7.98 ± 0.02
26	9.33 ± 0.00
27	14.02 ± 0.02
28	11.40 ± 0.02
29	10.05 ± 0.01
30	11.33 ± 0.01
31	9.23 ± 0.02
32	11.20 ± 0.01

ภาคผนวก ก.
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

Response: ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

Response: Response 3

ANOVA for Selected Factorial Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares]

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	Prob > F	
Model	813.43	23	35.37	3.84	0.0274	significant
A	*432.84*	*1*	*432.84*	*47.02*	*0.0001*	
B	*56.84*	*1*	*56.84*	*6.17*	*0.0378*	
C	*19.30*	*1*	*19.30*	*2.10*	*0.1857*	
D	*0.45*	*1*	*0.45*	*0.049*	*0.8308*	
E	*53.69*	*1*	*53.69*	*5.83*	*0.0422*	
AB	*7.73*	*1*	*7.73*	*0.84*	*0.3862*	
AC	*10.07*	*1*	*10.07*	*1.09*	*0.3262*	
AD	*17.21*	*1*	*17.21*	*1.87*	*0.2087*	
AE	*3.72*	*1*	*3.72*	*0.40*	*0.5428*	
BC	*20.79*	*1*	*20.79*	*2.26*	*0.1713*	
BD	*14.70*	*1*	*14.70*	*1.60*	*0.2419*	
BE	*30.09*	*1*	*30.09*	*3.27*	*0.1082*	
CD	*0.27*	*1*	*0.27*	*0.030*	*0.8678*	
DE	*33.07*	*1*	*33.07*	*3.59*	*0.0947*	
ABC	*28.90*	*1*	*28.90*	*3.14*	*0.1144*	
ABD	*0.78*	*1*	*0.78*	*0.085*	*0.7787*	
ABE	*0.044*	*1*	*0.044*	*4.807E-003*	*0.9464*	
ACD	*2.01*	*1*	*2.01*	*0.22*	*0.6532*	
ADE	*5.79*	*1*	*5.79*	*0.63*	*0.4507*	
BCD	*7.95*	*1*	*7.95*	*0.86*	*0.3799*	
BDE	*2.46*	*1*	*2.46*	*0.27*	*0.6193*	
ABCD5.79	*1*	*5.79*	*0.63*	*0.4507*		
ABDE	*58.94*	*1*	*58.94*	*6.40*	*0.0352*	
Residual	73.65	8	9.21			
Cor Total	887.08	31				
Std. Dev.	3.03		R-Squared	0.9170		
Mean	13.66		Adj R-Squared	0.6783		
C.V.	22.22		Pred R-Squared	-0.3284		

Coefficient Factor	Estimate	DF	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	13.66	1	0.54	12.42	14.89	
A-% EtOH	-3.68	1	0.54	-4.91	-2.44	1.00
B-Temperature	1.33	1	0.54	0.096	2.57	1.00
C-Material ratio	-0.78	1	0.54	-2.01	0.46	1.00
D-Extracting time	-0.12	1	0.54	-1.36	1.12	1.00
E-Nunber of the eatraction	-1.30	1	0.54	-2.53	-0.058	1.00
AB	0.49	1	0.54	-0.75	1.73	1.00
AC	0.56	1	0.54	-0.68	1.80	1.00
AD	-0.73	1	0.54	-1.97	0.50	1.00
AE	0.34	1	0.54	-0.90	1.58	1.00
BC	-0.81	1	0.54	-2.04	0.43	1.00
BD	-0.68	1	0.54	-1.91	0.56	1.00
BE	-0.97	1	0.54	-2.21	0.27	1.00
CD	-0.092	1	0.54	-1.33	1.14	1.00
DE	1.02	1	0.54	-0.22	2.25	1.00
ABC	0.95	1	0.54	-0.29	2.19	1.00
ABD	0.16	1	0.54	-1.08	1.39	1.00
ABE	-0.037	1	0.54	-1.27	1.20	1.00
ACD	0.25	1	0.54	-0.99	1.49	1.00
ADE	0.43	1	0.54	-0.81	1.66	1.00
BCD	0.50	1	0.54	-0.74	1.74	1.00
BDE	0.28	1	0.54	-0.96	1.51	1.00
ABCD	-0.43	1	0.54	-1.66	0.81	1.00
ABDE	1.36	1	0.54	0.12	2.59	1.00

Final Equation in Terms of Coded Factors:

Response 3	=
+13.66	
-3.68	* A
+1.33	* B
-0.78	* C
-0.12	* D
-1.30	* E
+0.49	* A * B
+0.56	* A * C
-0.73	* A * D

+0.34 * A * E
-0.81 * B * C
-0.68 * B * D
-0.97 * B * E
-0.092 * C * D
+1.02 * D * E
+0.95 * A * B * C
+0.16 * A * B * D
-0.037 * A * B * E
+0.25 * A * C * D
+0.43 * A * D * E
+0.50 * B * C * D
+0.28 * B * D * E
-0.43 * A * B * C * D
+1.36 * A * B * D * E

ตารางผนวกที่ ข - 1 แสดงการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ (correlation and factorial model) ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์ด้วยการออกแบบการทดสอบทางสถิติ และทดสอบ Multiway factorial ANOVA

Diagnostics Case Statistics

Standard Order	Actual Value	Predicted Value	Student Residual	Leverage	Cook's Residual	Outlier Distance	Run t Order
1	14.64	15.74	-1.10	0.750-0.722	0.065	-0.698	20
2	7.51	8.69	-1.18	0.750-0.775	0.075	-0.753	16
3	25.50	24.15	1.35	0.7500.890	0.099	0.877	6
4	19.65	18.52	1.13	0.7500.747	0.070	0.724	13
5	20.20	19.11	1.09	0.7500.722	0.065	0.698	5
6	8.97	7.80	1.17	0.7500.775	0.075	0.753	24
7	15.45	16.80	-1.35	0.750-0.890	0.099	-0.877	31
8	16.78	17.91	-1.13	0.750-0.747	0.070	-0.724	30
9	16.95	17.82	-0.87	0.750-0.575	0.041	-0.549	19
10	8.60	8.24	0.36	0.7500.237	0.007	0.223	12
11	26.16	23.53	2.63	0.7501.735	0.376	2.055	21
12	6.94	9.15	-2.21	0.750-1.460	0.266	-1.595	18
13	17.00	16.13	0.87	0.7500.575	0.041	0.549	29
14	7.33	7.69	-0.36	0.750-0.237	0.007	-0.223	15
15	15.87	18.50	-2.63	0.750-1.735	0.376	-2.055	3
16	11.69	9.47	2.21	0.7501.460	0.266	1.595	27
17	12.08	10.99	1.09	0.7500.722	0.065	0.698	9
18	10.35	9.18	1.17	0.7500.775	0.075	0.753	22
19	18.64	19.99	-1.35	0.750-0.890	0.099	-0.877	4
20	7.31	8.44	-1.13	0.750-0.747	0.070	-0.724	11
21	13.26	14.35	-1.09	0.750-0.722	0.065	-0.698	32
22	7.11	8.29	-1.17	0.750-0.775	0.075	-0.753	26
23	13.99	12.64	1.35	0.7500.890	0.099	0.877	10
24	8.97	7.84	1.13	0.7500.747	0.070	0.724	17
25	20.63	19.76	0.87	0.7500.575	0.041	0.549	14
26	7.60	7.96	-0.36	0.750-0.237	0.007	-0.223	8
27	14.78	17.41	-2.63	0.750-1.735	0.376	-2.055	1
28	13.60	11.39	2.21	0.7501.460	0.266	1.595	28
29	17.19	18.06	-0.87	0.750-0.575	0.041	-0.549	25
30	7.77	7.41	0.36	0.7500.237	0.007	0.223	7
31	15.02	12.39	2.63	0.7501.735	0.376	2.055	2
32	9.49	11.71	-2.22	0.750-1.460	0.266	-1.595	23

Response: อนุมูลอิสระ

ANOVA for Selected Factorial Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares]

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	Prob > F
Model	120.77	25	4.83	5.53	0.0204
A	*0.022*	*1*	*0.022*	*0.025*	*0.8804*
B	*0.51*	*1*	*0.51*	*0.58*	*0.4746*
C	*2.00*	*1*	*2.00*	*2.29*	*0.1813*
D	*3.36*	*1*	*3.36*	*3.85*	*0.0974*
E	*3.71*	*1*	*3.71*	*4.25*	*0.0850*
AB	*1.70*	*1*	*1.70*	*1.94*	*0.2126*
AC	*5.32*	*1*	*5.32*	*6.10*	*0.0485*
AD	*32.34*	*1*	*32.34*	*37.05*	*0.0009*
AE	*1.06*	*1*	*1.06*	*1.22*	*0.3122*
BC	*3.83*	*1*	*3.83*	*4.39*	*0.0811*
BD	*3.64*	*1*	*3.64*	*4.17*	*0.0873*
BE	*1.15*	*1*	*1.15*	*1.32*	*0.2945*
CD	*0.17*	*1*	*0.17*	*0.20*	*0.6722*
CE	*3.49*	*1*	*3.49*	*4.00*	*0.0924*
DE	*0.30*	*1*	*0.30*	*0.35*	*0.5777*
ABC	*0.11*	*1*	*0.11*	*0.13*	*0.7329*
ABD	*12.26*	*1*	*12.26*	*14.05*	*0.0095*
ABE	*2.78*	*1*	*2.78*	*3.18*	*0.1246*
ACE	*0.077*	*1*	*0.077*	*0.088*	*0.7764*
ADE	*1.69*	*1*	*1.69*	*1.93*	*0.2137*
BCD	*0.012*	*1*	*0.012*	*0.014*	*0.9090*
BCE	*10.29*	*1*	*10.29*	*11.79*	*0.0139*
BDE	*10.23*	*1*	*10.23*	*11.72*	*0.0141*
CDE	*5.64*	*1*	*5.64*	*6.46*	*0.0440*
ABCE	*15.08*	*1*	*15.08*	*17.28*	*0.0060*
Residual	5.24	6	0.87		
Cor Total	126.01	31			

Std. Dev.	0.93	R-Squared	0.9584
Mean	10.04	Adj R-Squared	0.7853
C.V.	9.31	Pred R-Squared	-0.1822
PRESS	148.97	Adeq Precision	7.467

Factor	Coefficient Estimate	DF	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	10.04	1	0.17	9.63	10.44	
A-% EtOH	-0.026	1	0.17	-0.43	0.38	1.00
B-Temperature	-0.13	1	0.17	-0.53	0.28	1.00
C-Material ratio	-0.25	1	0.17	-0.65	0.15	1.00
D-Extracting time	-0.32	1	0.17	-0.73	0.080	1.00
E-Nunber of the eatraction	-0.34	1	0.17	-0.74	0.064	1.00
AB	-0.23	1	0.17	-0.63	0.17	1.00

AC	-0.41	1	0.17	-0.81	-3.682E-003	1.00
AD	1.01	1	0.17	0.60	1.41	1.00
AE	-0.18	1	0.17	-0.59	0.22	1.00
BC	0.35	1	0.17	-0.058	0.75	1.00
BD	-0.34	1	0.17	-0.74	0.067	1.00
BE	-0.19	1	0.17	-0.59	0.21	1.00
CD	-0.073	1	0.17	-0.48	0.33	1.00
CE	0.33	1	0.17	-0.074	0.73	1.00
DE	0.097	1	0.17	-0.31	0.50	1.00
ABC	0.059	1	0.17	-0.35	0.46	1.00
ABD	-0.62	1	0.17	-1.02	-0.21	1.00
ABE	0.29	1	0.17	-0.11	0.70	1.00
ACE	-0.049	1	0.17	-0.45	0.36	1.00
ADE	-0.23	1	0.17	-0.63	0.17	1.00
BCD	0.020	1	0.17	-0.38	0.42	1.00
BCE	0.57	1	0.17	0.16	0.97	1.00
BDE	0.57	1	0.17	0.16	0.97	1.00
CDE	-0.42	1	0.17	-0.82	-0.016	1.00
ABCE	0.69	1	0.17	0.28	1.09	1.00

Final Equation in Terms of Coded Factors:

Response 1	=
+10.04	
-0.026	* A
-0.13	* B
-0.25	* C
-0.32	* D
-0.34	* E
-0.23	* A * B
-0.41	* A * C
+1.01	* A * D
-0.18	* A * E
+0.35	* B * C
-0.34	* B * D
-0.19	* B * E
-0.073	* C * D
+0.33	* C * E
+0.097	* D * E
+0.059	* A * B * C
-0.62	* A * B * D
+0.29	* A * B * E
-0.049	* A * C * E
-0.23	* A * D * E
+0.020	* B * C * D
+0.57	* B * C * E
+0.57	* B * D * E

-0.42 * C * D * E
+0.69 * A * B * C * E

Diagnostics Case Statistics

Standard Order	Actual Value	Predicted Value	Residual	Leverage	Student Residual	Cook's Distance	Outlier t	Run Order
1	11.71	11.96	-0.25	0.813	-0.616	0.063	-0.581	20
2	8.94	9.08	-0.14	0.813	-0.337	0.019	-0.310	16
3	12.84	12.93	-0.091	0.813	-0.224	0.008	-0.205	6
4	13.41	12.93	0.48	0.813	1.177	0.231	1.225	13
5	10.04	10.05	-0.011	0.813	-0.028	0.000	-0.025	5
6	8.64	8.24	0.40	0.813	0.981	0.160	0.977	24
7	12.92	12.57	0.35	0.813	0.868	0.126	0.848	31
8	7.89	8.63	-0.74	0.813	-1.821	0.553	-2.487	30
9	8.81	8.56	0.25	0.813	0.616	0.063	0.581	19
10	13.23	13.09	0.14	0.813	0.337	0.019	0.310	12
11	8.41	8.32	0.091	0.813	0.224	0.008	0.205	21
12	10.31	10.79	-0.48	0.813	-1.177	0.231	-1.225	18
13	7.97	7.96	0.011	0.813	0.028	0.000	0.025	29
14	13.17	13.57	-0.40	0.813	-0.981	0.160	-0.977	15
15	9.07	9.42	-0.35	0.813	-0.868	0.126	-0.848	3
16	8.68	7.94	0.74	0.813	1.821	0.553	2.487	27
17	11.82	11.25	0.57	0.813	1.404	0.329	1.565	9
18	10.14	10.32	-0.18	0.813	-0.451	0.034	-0.419	22
19	7.73	8.50	-0.77	0.813	-1.908	0.607	-2.777	4
20	7.71	7.32	0.39	0.813	0.955	0.152	0.946	11
21	12.71	13.02	-0.31	0.813	-0.760	0.096	-0.730	32
22	7.20	7.28	-0.078	0.813	-0.193	0.006	-0.177	26
23	11.37	10.86	0.51	0.813	1.264	0.266	1.347	10
24	10.71	10.84	-0.13	0.813	-0.311	0.016	-0.286	17
25	8.01	8.58	-0.57	0.813	-1.404	0.329	-1.565	14
26	13.41	13.23	0.18	0.813	0.451	0.034	0.419	8
27	9.91	9.14	0.77	0.813	1.908	0.607	2.777	1
28	8.20	8.59	-0.39	0.813	-0.955	0.152	-0.946	28
29	8.60	8.29	0.31	0.813	0.760	0.096	0.730	25
30	8.21	8.13	0.078	0.813	0.193	0.006	0.177	7
31	9.09	9.60	-0.51	0.813	-1.264	0.266	-1.347	2
32	10.33	10.20	0.13	0.813	0.311	0.016	0.286	23

Response: การป้องกันแสงแดด

ANOVA for Selected Factorial Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares]

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F ValueProb > F		
Model	136.90	11	12.45	9.58	< 0.0001	significant
A	*52.74*	*1*	*52.74*	*40.59*	*< 0.0001*	
B	*6.00*	*1*	*6.00*	*4.62*	*0.0440*	
C	*11.18*	*1*	*11.18*	*8.61*	*0.0082*	
D	*0.12*	*1*	*0.12*	*0.092*	*0.7649*	
BC	*8.01*	*1*	*8.01*	*6.16*	*0.0220*	
BD	*4.25*	*1*	*4.25*	*3.27*	*0.0855*	
CD	*3.25*	*1*	*3.25*	*2.50*	*0.1293*	
BCD	*12.71*	*1*	*12.71*	*9.78*	*0.0053*	
ABCE	*5.262E-003*	*1*	*5.262E-003*	*4.050E-003*	*0.9499*	
ABDE	*20.21*	*1*	*20.21*	*15.55*	*0.0008*	
ABCDE	*18.41*	*1*	*18.41*	*14.17*	*0.0012*	
Residual	25.99	20	1.30			
Cor Total	162.88	31				

Std. Dev.	1.14	R-Squared	0.8405
Mean	7.49	Adj R-Squared	0.7527
C.V.	15.22	Pred R-Squared	0.5916
PRESS	66.53	Adeq Precision	13.616

Coefficient Factor	Estimate	DF	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	7.49	1	0.20	7.07	7.91	
A-% EtOH	-1.28	1	0.20	-1.70	-0.86	1.00
B-Temperature	0.43	1	0.20	0.013	0.85	1.00
C-Material ratio	-0.59	1	0.20	-1.01	-0.17	1.00
D-Extracting time	0.061	1	0.20	-0.36	0.48	1.00
BC	-0.50	1	0.20	-0.92	-0.080	1.00
BD	-0.36	1	0.20	-0.78	0.056	1.00
CD	0.32	1	0.20	-0.10	0.74	1.00
BCD	0.63	1	0.20	0.21	1.05	1.00
ABCE	-0.013	1	0.20	-0.43	0.41	1.00
ABDE	0.79	1	0.20	0.37	1.22	1.00
ABCDE	-0.76	1	0.20	-1.18	-0.34	1.00

Final Equation in Terms of Coded Factors:

Response 1	=
+7.49	
-1.28	* A
+0.43	* B
-0.59	* C
+0.061	* D
-0.50	* B * C
-0.36	* B * D
+0.32	* C * D
+0.63	* B * C * D
-0.013	* A * B * C * E
+0.79	* A * B * D * E
-0.76	* A * B * C * D * E

Final Equation in Terms of Actual Factors:

Not available, because this model is not hierarchical.

Only hierarchical models are scale independent and can be translated into actual units.

ตารางผนวกที่ ข - 2 แสดงการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ (correlation and factorial model) ในการสกัดกับปริมาณสารฟลาโวนอยด์ด้วยการออกแบบการทดสอบทางสถิติ และทดสอบ Multiway factorial ANOVA

Diagnostics Case Statistics

Standard Order	Actual Value	Predicted Value	Residual	Student Leverage	Cook's Residual	Outlier Distance	Run tOrder
1	8.57	8.74	-0.17	0.375-0.185	0.002	-0.180	20
2	8.01	8.04	-0.036	0.375-0.040	0.000	-0.039	16
3	5.58	5.04	0.55	0.3750.607	0.018	0.597	6
4	7.23	6.17	1.06	0.3751.175	0.069	1.187	13
5	4.16	3.59	0.57	0.3750.631	0.020	0.622	5
6	8.07	7.60	0.47	0.3750.516	0.013	0.507	24
7	9.23	10.01	-0.78	0.375-0.862	0.037	-0.857	31
8	11.33	10.74	0.60	0.3750.661	0.022	0.652	30
9	6.78	7.48	-0.71	0.375-0.782	0.031	-0.775	19
10	6.51	6.67	-0.16	0.375-0.174	0.002	-0.170	12
11	6.93	7.42	-0.49	0.375-0.546	0.015	-0.536	21
12	8.05	9.24	-1.19	0.375-1.318	0.087	-1.344	18
13	10.05	8.18	1.86	0.3752.065	0.213	2.269	29
14	8.42	8.09	0.34	0.3750.373	0.007	0.365	15
15	6.41	7.44	-1.03	0.375-1.141	0.065	-1.151	3
16	14.02	13.09	0.93	0.3751.033	0.053	1.034	27
17	5.10	4.85	0.24	0.3750.269	0.004	0.263	9
18	7.28	8.78	-1.51	0.375-1.671	0.140	-1.756	22
19	5.31	5.82	-0.51	0.375-0.562	0.016	-0.552	4
20	6.83	6.22	0.61	0.3750.681	0.023	0.671	11
21	11.20	10.61	0.59	0.3750.651	0.021	0.642	32
22	9.33	8.39	0.94	0.3751.040	0.054	1.042	26
23	4.97	5.52	-0.55	0.375-0.608	0.018	-0.598	10
24	6.23	7.52	-1.29	0.375-1.434	0.103	-1.476	17
25	6.93	6.15	0.78	0.3750.861	0.037	0.855	14
26	6.56	8.17	-1.61	0.375-1.785	0.159	-1.897	8
27	5.07	4.91	0.15	0.3750.171	0.001	0.166	1
28	11.40	10.52	0.88	0.3750.971	0.047	0.970	28
29	7.98	8.34	-0.36	0.375-0.402	0.008	-0.394	25
30	5.71	5.77	-0.068	0.375-0.076	0.000	-0.074	7
31	3.97	5.62	-1.65	0.375-1.831	0.168	-1.956	2
32	6.49	4.95	1.54	0.3751.711	0.146	1.805	23

ภาคผนวกที่ ข - 3 แสดงการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่าSPFกับปริมาณฟลาโวนอยด์

Correlations

		SPF	Flavonoid
SPF	Pearson Correlation	1	.815(**)
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	32	32
Flavonoid	Pearson Correlation	.815(**)	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	32	32

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).